ZUR KENNTNIS DER SOGENANNTEN ERYTHROCHIN-REAKTION

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
dem Fachbereich Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt
von

Reinhard Dietrich Jaschik
aus
Neustadt/Oberschlesien

1974

74 461

ZUR KENNTNIS DER SOGENANNTEN ERYTHROCHIN-REAKTION

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
dem Fachbereich Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt
von

Reinhard Dietrich Jaschik
aus
Neustadt/Oberschlesien

1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 1. Juli 1974

Dekan: Professor Dr. H. Auterhoff

1. Berichterstatter: Professor Dr. H. Auterhoff

2. Berichterstatter: Professor Dr. E. Graf

Meiner Frau

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546514_0079

Die vorliegende Arbeit wurde im Mai 1968 unter Leitung von Herrn Professor Dr. H. AUTERHOFF am Pharmazeutischen Institut der Universität Tübingen begonnen und im April 1974 abgeschlossen.

Meinem verehrten Lehrer,

Herrn Professor Dr. H. AUTERHOFF

danke ich für die Anregungen und die freundliche Unterstützung, die mir bei der Durchführung dieser Arbeit zuteil wurden.

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung 1

II. Variation der Reaktionsbedingungen 3

1. Zugabe von Brom oder Chlor 3
2. Zugabe von Alkali 6
3. Zugabe von Hexacyanoferrat(II), Hexacyanoferrat-(III) und Eisen(III)-salzen 10
4. Haltbarkeit der roten Färbung 16
5. Vorschlag für eine optimierte Vorschrift zur Ausführung der Reaktion 19

III. Untersuchung des roten Produktes 21

1. Extraktion mit Äther 21
2. Schichtchromatographie 23

IV. Versuche zur Isolierung von Zwischenprodukten 29

1. Chloroformextrakt des schwach sauren Ansatzes .. 29
2. Ausführung der Reaktion in Chloroform 31
   a) Spektroskopische Untersuchung und Bedingungen für das Auftreten der roten Färbung 31
   b) Dünnschichtchromatographische Untersuchung .. 35

V. Untersuchung der Erythrochin-Reaktion an Modellsubstanzen 38

1. Reaktionsbedingungen bei 6-Methoxychinolin 38
2. Untersuchung möglicher Zwischenprodukte 41
3. Untersuchung von 5,6-Chinolinchinon 49
4. Diskussion des möglichen Auftretens von 6,7-Chinolinchinon 50

VI. Zusammenfassung 54

Beschreibung der Versuche 56

I. Einleitung

Als Identitätsreaktion für Chinin und seine Salze ist neben der Thalleiochin-Reaktion - die vielfach Aufnahme in Pharmakopöen gefunden hat - die Erythrochin-Reaktion gebräuchlich. Sie wurde erstmals von A. VOGEL[1] im Jahre 1850 beschrieben. Die ursprüngliche Ausführung erfolgt so, daß man zu einer neutralen oder schwach sauren Chininsalzlösung Chlor- oder Bromwasser und dann Kaliumhexacyanoferrat(II)-Lösung gibt. Beim Alkalisieren mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit entsteht je nach der vorliegenden Chininkonzentration eine rosa bis rote Färbung, die mit Chloroform extrahiert werden kann.

Im Laufe der Zeit wurden verschiedene Untersuchungen über die Erythrochin-Reaktion angestellt, die der Verbesserung der Durchführung oder der Steigerung der Empfindlichkeit dienten. In diesem Zusammenhang sind folgende Autoren zu nennen: J. ABENSOUR[2], der bei Anwendung von halbgesättigtem Bromwasser eine höhere Empfindlichkeit der Erythrochin-Reaktion gegenüber der Thalleiochin-Reaktion bemerkte, G.W. HARGREAVES[3], der statt Kaliumhexacyanoferrat(II) Phenylhydrazin benutzte, R. MONNET[4], der die Bedingungen untersuchte, unter denen die Reaktion sicherer eintritt, und der durch Reduzierung der Kaliumhexacyanoferrat(II)-Menge eine Empfindlichkeitssteigerung erzielte, L. ROSENTHALER[5], der fand, daß die Reaktion besser mit Kaliumhexa-

---

1) A. VOGEL, Liebigs Ann. Chem. 73, 222 (1850)
2) J. ABENSOUR, J. Pharm. Chim. 6. sér. 26, 25 (1907); ref. C. 1907, 1124
3) G.W. HARGREAVES, J. Amer. Pharmac. Assoc. sci. Edit. 15, 100 (1926)
4) R. MONNET, J. Pharm. Chim. 8. sér. 18, 59 (1933); ref. C. 1933, 2430 et Z. analyt. Chem. 100, 78
5) L. ROSENTHALER, Scientia pharmac. 7, 59 (1936); ref. C. 1936, 3333

cyanoferrat(III) durchgeführt werden sollte und daß die Zugabe von Ammoniumthiocyanat überschüssiges Brom, das die Reaktion stören kann, unschädlich macht, L. DÁVID[6], der zur Unterscheidung von Chinin und Chinidin die unterschiedliche Alkaliempfindlichkeit der jeweiligen roten Farbprodukte ausnutzte, D. BARKOVIĆ[7], der die Reaktion unter Erwärmen in acetatgepufferter Lösung ohne Zusatz von Hexacyanoferraten ausführte und der auch eine Mikroreaktion auf Filtrierpapier, das aber basische Bestandteile enthalten muß, entwickelte und schließlich W. KAMP[8], der die Reaktion zur Steigerung der Empfindlichkeit auf einer Harz-Kationenaustauschersäule ausführte.

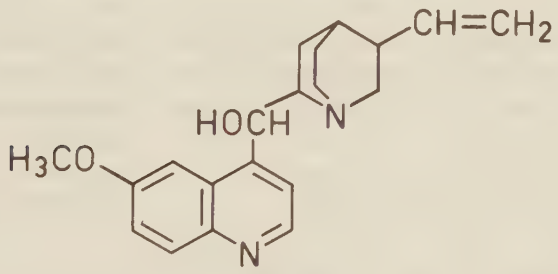
Die Zahl derjenigen Autoren, die sich Gedanken um den Reaktionsverlauf und eine mögliche Struktur des Reaktionsproduktes machten, ist viel kleiner und beschränkt sich auf drei der oben genannten Namen: L. DÁVID[6], der eine Bromsubstitution und anschließende Salzbildung mit dem Kaliumhexacyanoferrat(II) annahm, G.W. HARGREAVES[3], der beobachtete, daß die Voraussetzung für den positiven Ausfall der Reaktion eine oxidierbare Gruppe in 6-Stellung am Chinolinringsystem des Chininmoleküls ist, und der vermutet, daß intermediär ein 5,6-Diketon entsteht, das mit zwei Mol Phenylhydrazin unter Wasseraustritt reagiert, und schließlich D. BARKOVIĆ[9], der auch eine o-Chinonstruktur für wahrscheinlich hält, und deshalb den allgemeineren Namen "Chinonreaktion" vorschlägt, da außer Chinin und Chinidin auch andere Chinaalkaloide und Chinolinabkömmlinge, die in 6-Stellung eine Alkoxygruppe tragen, die Reaktion geben können.

---

6) L. DÁVID, Pharmac. Acta Helvetiae 24, 427 (1949); ref. C. 1950, 2345
7) D. BARKOVIĆ, Acta pharmac. jugosl. 1, 73 (1951); ref. C. 1953, 6730
8) W. KAMP, Pharmac. Weekbl. 100, 321 (1965)
9) D. BARKOVIĆ, Acta pharmac. jugosl. 1, 91 (1951); 2, 68(1952) ref. C. 1953, 6730

II. Variation der Reaktionsbedingungen

Beim Nacharbeiten der in der Literatur angegebenen Vorschriften für die Erythrochin-Reaktion stellte sich heraus, daß trotz aller bisheriger Verbesserungsvorschläge die Reaktion sehr unterschiedlich gelingt. Daher wurden im ersten Abschnitt dieser Arbeit die Reaktionsbedingungen exakter festgelegt, und anhand der Ergebnisse dieser Untersuchungen eine optimierte Vorschrift für die Durchführung der Reaktion ausgearbeitet.



Chinin

1. Zugabe von Brom oder Chlor

Zunächst wurde untersucht, welche Brommenge vom Chinin oder einem seiner Salze verbraucht wird. Dazu wurde die Reaktion in der von H. BAUER und H. MOLL[10] angegebenen Weise durchgeführt, aber steigende Äquivalente Brom eingesetzt. Die Extinktion der

10) H. BAUER u. H. MOLL, Die organische Analyse, 4. Aufl. Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig, Leipzig 1960, S. 526

danach auftretenden roten Färbung, die - wie Vorversuche ergaben - bei einer Wellenlänge von λ = 535 nm ihr Maximum hat, wurde im Spektralphotometer gemessen. Die Versuche ergaben, daß Chinin vier Äquivalente Brom benötigt, um eine maximale Färbung hervorzurufen.

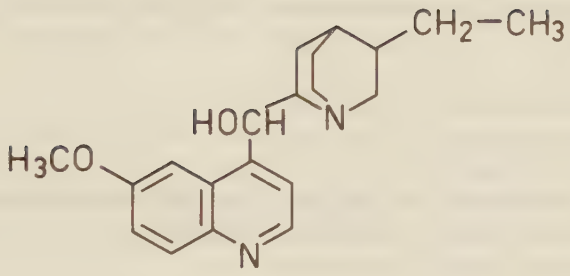
Äquivalente Brom:	1	2	3	4	5
Extinktion bei 535 nm:	0,17	0,32	0,39	0,76	0,62

Chinin trägt am Chinuclidinring eine reaktionsfähige Vinylseitenkette, die bei der Bromierung zuerst angegriffen wird und einen Teil des eingesetzten Broms addiert, wobei verschiedene Substanzen auftreten können. Diese Tatsache kann ja auch zu einer "quantitativen Reinheitsprüfung" für Chinin ausgenutzt werden, wie dies E. SCHULEK und J. KOVÁCS[11] vorgeschlagen haben. Die Methode hat in der von H. BÖHME und Mitarbeitern[12] modifizierten Form zur Bestimmung des Hydrochiningehalts in Chinin Aufnahme ins DAB 7[13] gefunden.

Um beim Studium der Erythrochin-Reaktion einfachere Verhältnisse vorliegen zu haben, wurden die folgenden Versuche mit Hydrochinin, dem Hydrierungsprodukt des Chinins, wiederholt. Dazu wurde Chinin nach HEIDELBERGER und JACOBS[14] mit Wasserstoff und Palladium als Katalysator unter Normaldruck zum Hydrochinin hydriert.

---

11) E. SCHULEK u. J. KOVÁCS, Z. anal. Chem. 121, 21 (1941)
12) H. BÖHME, R. NEIDLEIN u. E. TAUBER, Arch. Pharmaz. 294, 315 (1961)
13) DAB 7, S. 418 (1968)
14) M. HEIDELBERGER u. W.A. JACOBS, J. Amer. chem. Soc. 41, 821 (1919)



Hydrochinin

Nach der Einwirkung steigender Brommengen wurde ebenfalls die Extinktion der roten Färbung gemessen. Erwartungsgemäß verbrauchte Hydrochinin in der Erythrochin-Reaktion, um eine maximale Färbung erzielen, zwei Äquivalente Brom.

Äquivalente Brom:	1	2	3	4
Extinktion bei 535 nm:	0,29	0,77	0,65	0,10

Das für die Versuche benutzte Bromwasser wurde jeweils frisch bereitet, denn älteres Bromwasser gab stets niedrigere Extinktionen.

Da in der Literatur zur Ausführung der Erythrochin-Reaktion sowohl Brom- wie Chlorwasser angegeben werden, war zu klären, ob bei Anwendung von Chlorwasser eine qualitativ oder quantitativ unterschiedliche Reaktion auftritt.

Die Versuche mit Chlorwasser ergaben, daß es in gleicher Weise wie Bromwasser eingesetzt werden kann: Hydrochinin benötigt für

eine maximale Färbung zwei Äquivalente Chlor. Das Elektronenspektrum zeigt bei gleichen Maxima auch die gleichen Extinktionswerte (siehe Abb. 5).

2. Zugabe von Alkali

Nach der Bromzugabe kann die Reaktion auf verschiedene Weise weitergeführt werden, wobei unterschiedliche Farbintensitäten und Farbverschiebungen auftreten.

Als erstes wurde die von D. BARKOVIĆ[7] vorgeschlagene Methode, die ohne Hexacyanoferrate arbeitet und eine Vereinfachung zu sein schien, untersucht. Der mit der erforderlichen Menge Bromwasser versetzten Hydrochininhydrochloridlösung wurde Natriumacetat zugesetzt. Eine zunächst auftretende gelblich-weiße Fällung löste sich schnell wieder auf. Nach einiger Zeit begann sich die Lösung rötlich zu färben und nach etwa zehn Minuten hatte die Färbung ihre höchste Intensität erreicht, die aber nicht lange anhielt. Bald trat eine Verfärbung nach braun auf. Wurde auf etwa 60° erwärmt, so trat die rote Färbung schneller auf, der Ansatz bräunte aber auch schneller.

Versuche mit steigenden Natriumacetatmengen bei gleichem Bromzusatz von zwei Äquivalenten ergaben, daß eine ca. 2,6 Äquivalenten Natriumacetat entsprechende Menge die intensivste Färbung ergab. Dabei wurde in dieser roten Lösung mit Hilfe der Glaselektrode ein pH-Wert von 4,5 gemessen. Die mit Bromwasser versetzte Hydrochininlösung zeigte einen pH-Wert von ca. 2,5, der beim Zugeben von Natriumacetat langsam anstieg. Bei pH-Werten zwischen 3 und 4 setzte die Rotfärbung ein.

Aus der noch schwach sauren Lösung war kein rotes Produkt mit Chloroform extrahierbar; es mußte erst alkalisiert werden. Als geeignet erwiesen sich schwache Alkalien wie Natriumhydrogencarbonat oder starke Alkalien in sehr verdünnten Lösungen.

Auch organische Basen wie Pyridin konnten benutzt werden. Ein Überschuß mußte in jedem Fall vermieden werden, da sonst sofort Braunfärbung auftrat.

Bei den Versuchen mit verschiedenen Alkalisierungsmitteln wurde beobachtet, daß die mit Bromwasser versetzte Hydrochininsalzlösung auch mit diesen, genau wie mit Natriumacetat, eine Rotfärbung ergab. Es wurden Versuche mit 0,2 n Natronlauge und ca. 0,4%iger Ammoniakflüssigkeit durchgeführt.

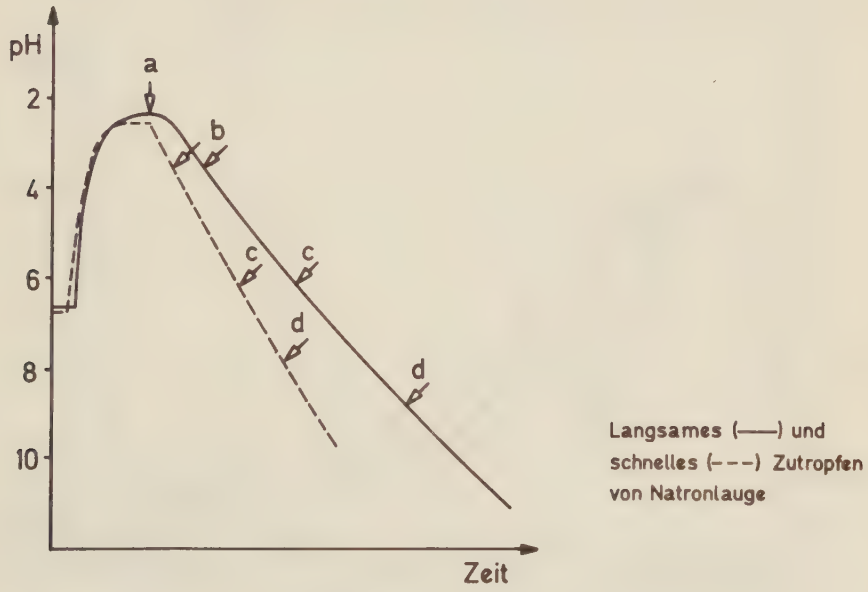


Abb. 1: pH-Verlauf während Natronlaugezusatz
a) Beginn des Alkalizusatzes, b) Einsetzen der Rotfärbung, c) maximale Rotfärbung, d) Braunfärbung

Sowohl bei Verwendung von verdünnter Natronlauge wie von verdünnter Ammoniakflüssigkeit setzte die Rotfärbung bei ca. pH 3 - 4 ein, um bei Werten um 6 ein Maximum zu erreichen. Bei pH-Werten über 7,6 begann die Mischung sich bräunlich zu verfärben. Wurde das Alkalisierungsmittel langsamer zugegeben, stieg der pH-Wert also langsamer an, so trat die Verfärbung erst später, d.h. bei höheren pH-Werten ein. Bei ganz langsamer Zugabe erfolgte manchmal überhaupt keine Verfärbung, sondern es entstand dann eine rot gefärbte Fällung. Auch wurde beobachtet, daß beim Zutropfen von Alkali die Rotfärbung immer zuerst an der Eintropfstelle sichtbar wurde, an der gegenüber der umgebenden Lösung eine höhere Alkalikonzentration herrscht.

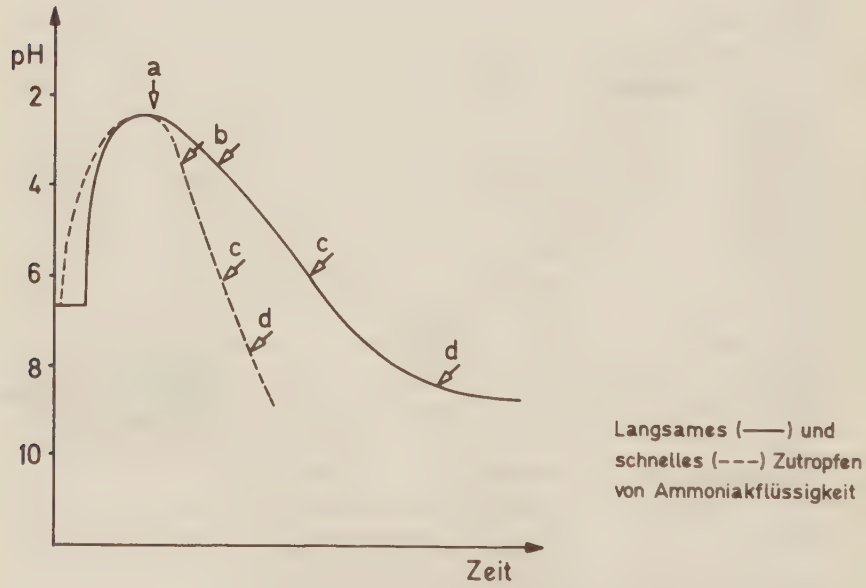


Abb. 2: pH-Verlauf während Ammoniakzusatz
a) Beginn des Alkalizusatzes, b) Einsetzen der Rotfärbung, c) maximale Rotfärbung, d) Braunfärbung

Die Absorptionsspektren der wässrigen roten Lösung nach Zusatz von Natriumacetat, verdünnter Natronlauge oder verdünnter Ammoniakflüssigkeit sind gleich, abgesehen davon, daß die Färbung nach Natriumacetatzusatz etwas schwächer ist. Das für die rote Färbung charakteristische Maximum liegt jeweils bei 535 nm. Außerdem ist ein dem Hydrochinin zuzuordnendes Maximum bei ca. 335 nm sichtbar.

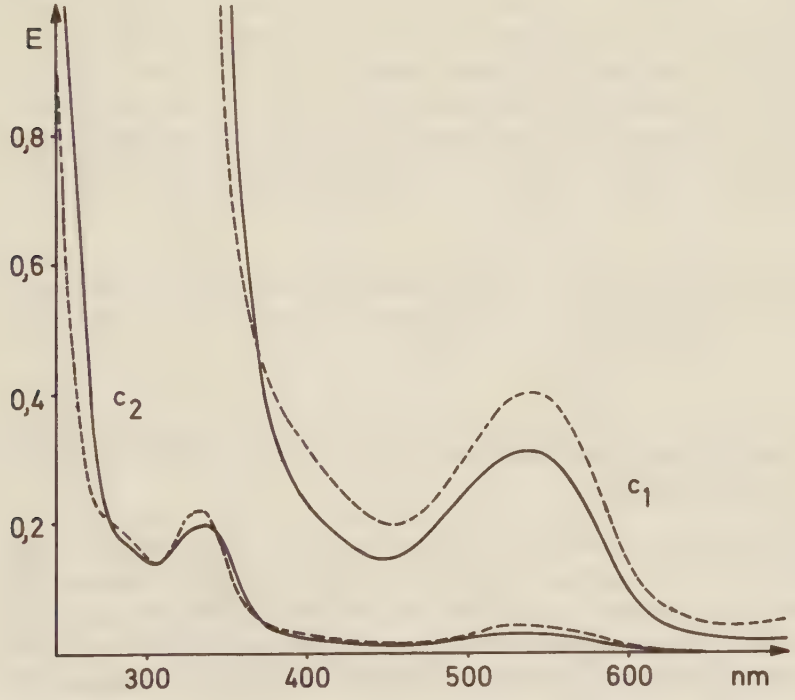


Abb. 3: Spektrum der roten Färbung nach Natriumacetatzusatz (——) und nach Natronlauge- oder Ammoniakzusatz (- -) $c_1 = 5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l, $c_2 = 5 \cdot 10^{-5}$ Mol/l Hydrochinin-HCl

Die Ähnlichkeit der Absorptionsspektren nach Einsatz der verschiedenen Alkalisierungsmittel und der Vergleich des pH-Verlaufs während der Zugabe schwacher Natronlauge einerseits und verdünnter Ammoniakflüssigkeit andererseits zeigen, daß das Auftreten der roten Färbung nicht von der Natur des Alkalisierungsmittels abhängig ist, sondern, daß es darauf ankommt, einen bestimmten pH-Bereich einzuhalten.

Weiterhin war zu beachten, daß nach der Bromierung die Reaktion sogleich durch Alkalizugabe weitergeführt werden mußte. War dies nicht der Fall, so waren durch Alkalizusatz nur noch schwache Rotfärbungen und nach kurzer Zeit überhaupt keine Färbung mehr zu erreichen. Extinktionsmessungen nach verschieden lange hinausgeschobenem Alkalizusatz bestätigten diese Beobachtung.

Zeit (Minuten):	0	1	2	3	4	5
Extinktion bei 535 nm :	1,92	0,83	0,38	0,08	0,05	0,03

3. Zugabe von Hexacyanoferrat(II), Hexacyanoferrat(III) und Eisen(III)-salzen

Weiter wurde die seit der Entdeckung der Erythrochin-Reaktion gebräuchliche Ausführungsart unter Zusatz von Kaliumhexacyanoferrat(II)-Lösung untersucht. Der mit Bromwasser versetzten Hydrochininsalzlösung wurde Kaliumhexacyanoferrat(II)-Lösung zugegeben, wobei die Mischung die gelbliche Farbe des Hexacyanoferrats annahm, bei höheren Hydrochininkonzentrationen trat eine gelblich gefärbte Fällung auf. Beim darauffolgenden Zusatz von verdünnter Natronlauge oder verdünnter Ammoniakflüssigkeit - beide sind auch hier gleichwertig - färbte sich die Mischung bzw. die Fällung sofort rot. Diese Färbung war aber im Gegensatz zu den Färbungen, die auf bloßen Zusatz eines Alkalisierungsmittels

erhalten wurden, etwas intensiver, und ließ sich, da hier ohne Nachteil mit einem geringen Alkaliüberschuß gearbeitet werden konnte, vollständig mit Chloroform extrahieren.

Das Elektronenspektrum der Chloroformlösung zeigt das Absorptionsmaximum der roten Färbung ebenfalls bei 535 nm, außerdem ein neues Maximum bei 375 nm und das dem Hydrochinin zuzuordnende Maximum bei 335 nm.

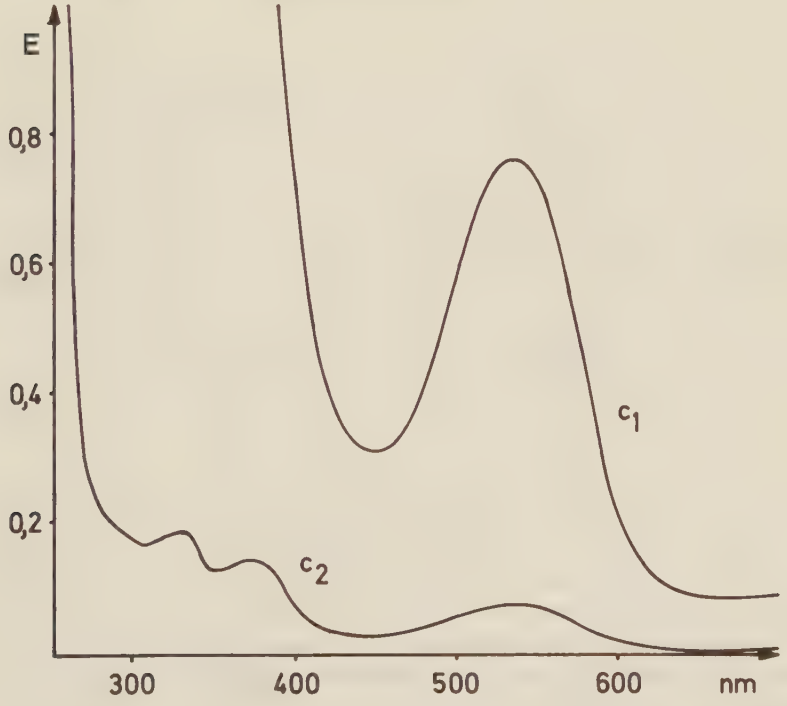


Abb. 4: Spektrum der roten Färbung nach Kaliumhexacyanoferrat-(II)-Zusatz (Chloroformauszug)
$c_1 = 5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l, $c_2 = 5 \cdot 10^{-5}$ Mol/l Hydrochinin-HCl

Wurde statt des Kaliumhexacyanoferrat(II) nach dem Vorschlag von L. ROSENTHALER[5] in gleicher Weise Kaliumhexacyanoferrat(III) verwandt, so trat ebenfalls spontan beim Alkalisieren Rotfärbung auf, die noch intensiver war, als nach den bisherigen Versuchsvariationen. Versuche mit wechselnden Mengen Kaliumhexacyanoferrat(III) ergaben bei Intensitätsmessungen der danach erhaltenen Rotfärbung, daß die zwei Mol entsprechende Menge Kaliumhexacyanoferrat(III) die optimale Rotfärbung hervorrief. Die gemessenen Extinktionen betrugen etwa das Fünffache der nach bloßem Natriumacetat- oder Alkalizusatz meßbaren Extinktionswerte.

Die Intensität der roten Färbung und die Tatsache, daß die Färbung nicht schon bei der Zugabe von Kaliumhexacyanoferraten sondern nur in alkalischem Milieu mit Kaliumhexacyanoferrat(III) auftritt, macht deutlich, daß das Auftreten der Färbung entgegen der Vermutung von L. DAVID[6] nicht auf einer Salzbildung mit den Kaliumhexacyanoferraten sondern auf der Oxidationswirkung des Hexacyanoferrat(III) beruht. In der Tat ist nach der Extraktion des roten Farbstoffs in der verbleibenden wässrigen Phase neben Hexacyanoferrat(III) auch Hexacyanoferrat(II) nachweisbar. Auch in anderen pharmazeutisch gebräuchlichen Farbreaktionen wird die Oxidationswirkung vom Hexacyanoferrat(III) in alkalischem Milieu ausgenutzt[15, 16].

Die Tatsache, daß mit Kaliumhexacyanoferrat(II) schwächere Färbungen erzielt werden als mit Kaliumhexacyanoferrat(III), muß so gedeutet werden, daß Kaliumhexacyanoferrat(II) selbst nicht reagiert, sondern erst das durch Brom zum Hexacyanoferrat(III) oxidierte Salz. Diese Vermutung wird bestätigt, wenn man nicht in der normalen Reihenfolge Hydrochinin, Bromwasser, Kaliumhexacyanoferrat(II) und Alkali zusammengibt, sondern umgekehrt zuerst mit Kaliumhexacyanoferrat(II) und dann mit Bromwasser versetzt. Beim Alkalisieren tritt nun eine viel intensivere

---

15) DAB 7-DDR, Monogr. "Diacetyldioxyphenisatinum" (1964)
16) ÖAB 9, S. 584 (1960)

Färbung auf, die aber noch nicht den Extinktionswert erreicht, den die Färbung bei normaler Reihenfolge der Reagenzien nach Zusatz von Kaliumhexacyanoferrat(III) zeigt. Erst wenn bei umgekehrter Reihenfolge die doppelte Menge an Bromwasser zugegeben wird, ist mit Kaliumhexacyanoferrat(II) eine gleich intensive Rotfärbung wie mit Kaliumhexacyanoferrat(III) erreichbar.

Das Elektronenspektrum der mit Kaliumhexacyanoferrat(III) erhaltenen und mit Chloroform extrahierten Färbung ähnelt dem

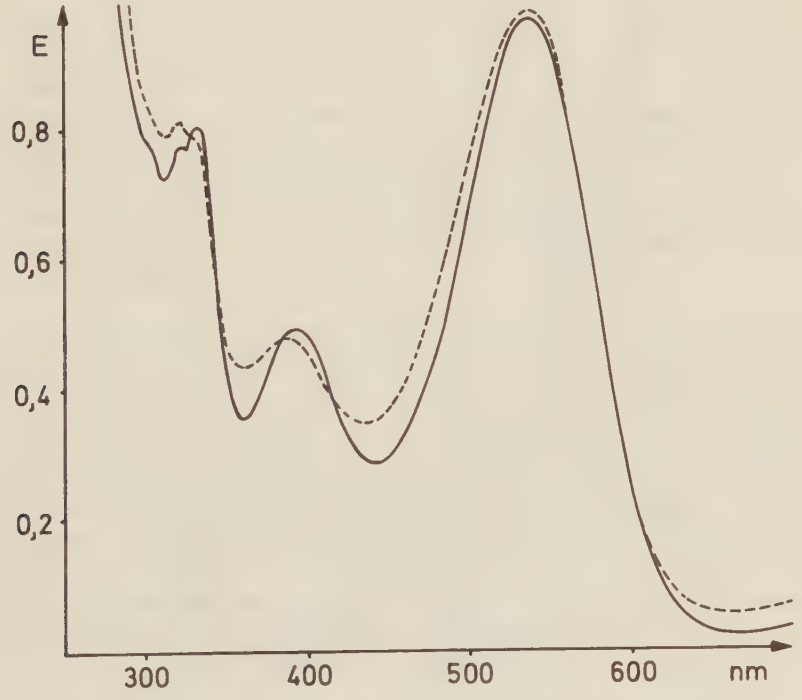


Abb. 5: Spektrum der roten Färbung nach Kaliumhexacyanoferrat(III)-Zusatz (Chloroformauszug), c = 2,5 · 10^{-4} Mol/l Hydrochinin-HCl, mit Bromwasser (——), mit Chlorwasser (- -)

vorigen stark. Die Abbildung 5 zeigt die Spektren dieser Färbung nach Anwendung von Brom- sowie Chlorwasser, die bezüglich der Farbbildung beide in gleicher Weise eingesetzt werden können. Die Absorptionsmaxima liegen bei 535 nm, 390 nm und 335 nm.

Das Maximum bei 390 nm kann nicht vom Kaliumhexacyanoferrat(III) oder Hydrochinin-Hexacyanoferrat(III) herrühren, denn diese zeigen charakteristische Maxima bei 420 nm (siehe Abb. 6).

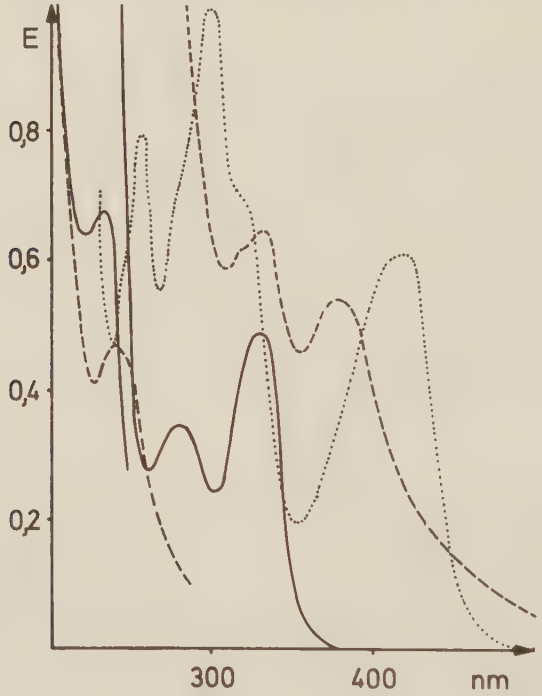


Abb. 6: Vergleichsspektren
Kaliumhexacyanoferrat(III) (•••), Hydrochinin (——), Hydrochinin, Bromwasser und Natronlauge im Überschuß (- -)

Da außerdem die Chloroformextraktion der Farbprodukte bei alkalischem pH-Wert erfolgt, wird vorhandenes Hydrochinin-Hexacyanoferrat(III) zerlegt und es geht nur die Base in die organische Phase. Kaliumhexacyanoferrat(III) ist im Chloroformextrakt nicht nachweisbar: Beim Schütteln der Chloroformphase mit salzsaurer Eisen(II)-sulfatlösung tritt keine Färbung von Berliner Blau auf. Gleiches gilt für Kaliumhexacyanoferrat(II) bzw. Hydrochinin-Hexacyanoferrat(II), die zudem in dem in Frage kommenden Wellenlängenbereich keine Absorption aufweisen.

Erfolgt die Zugabe überschüssigen Alkalis vor dem Kaliumhexacyanoferrat(III)-Zusatz, so wird die schon oben beschriebene braun verfärbte Mischung erhalten. Das Absorptionsspektrum dieses Ansatzes zeigt ebenfalls die für Hydrochinin charakteristischen Maxima und außerdem ein Maximum bei 390 nm, das also unabhängig vom Kaliumhexacyanoferrat(III)-Zusatz auftritt. Durch Zufügen von Kaliumhexacyanoferrat(III) zur braunen Mischung kann die bekannte Rotfärbung noch nachträglich hervorgerufen werden.

Darauf fußend wurden Eisen(III)-salze als Oxidationsmittel erprobt. Das Anion der Eisen(III)-salze ist nicht entscheidend, wenn es nicht Eigenwirkung besitzt. So wurde Eisen(III)-chlorid anstelle von Kaliumhexacyanoferrat(III) in die ansonsten normal ausgeführte Reaktion eingesetzt und ergab beim Alkalisieren spontan Rotfärbung. Die Intensität dieser Färbung entsprach größenordnungsmäßig etwa derjenigen nach Natriumacetat- oder Alkalizugabe und war geringer als nach Hexacyanoferratzusatz. Das Elektronenspektrum zeigt Absorptionsmaxima bei 532 nm, 375 nm und bei 330 nm (siehe Abb. 7).

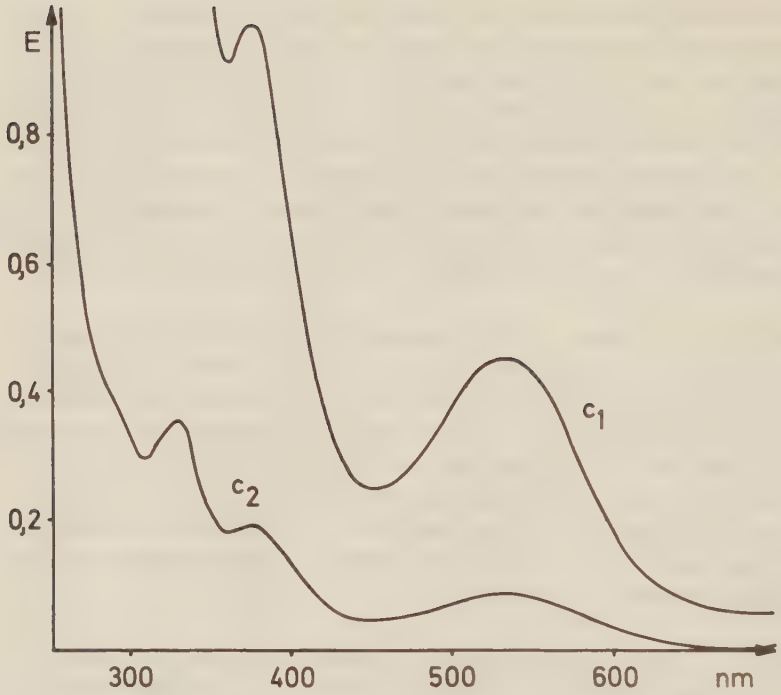


Abb. 7: Spektrum der roten Färbung nach Eisen(III)-chlorid-Zusatz (Chloroformauszug)
$c_1 = 5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l, $c_2 = 10^{-4}$ Mol/l Hydrochinin-HCl

4. Haltbarkeit der roten Färbung

Die Beständigkeit der roten Färbung ist gering, zumal der gebildete Farbstoff lichtempfindlich ist. Die relativ schwachen Färbungen, die nach Natriumacetat- oder Alkalizugabe erhalten wurden, nahmen bald eine braune Farbe an. Auch die kräftige Färbung, die mit Hilfe von Kaliumhexacyanoferrat(III) erzielt werden konnte, war nicht haltbar. Wurde die rote Lösung inten-

siver Strahlung ausgesetzt, etwa im Spektralphotometer bei 535 nm, so trat innerhalb von fünf Minuten Braunfärbung auf. Wenn dagegen die rote Lösung nur kurz während der Messung in den Strahlengang gebracht wurde, so änderte sich die Färbung nicht wesentlich, nahm aber mit der Zeit - zunächst rascher, später langsamer - ab. Nach etwa acht Stunden war die Farbintensität auf nahezu die Hälfte gesunken.

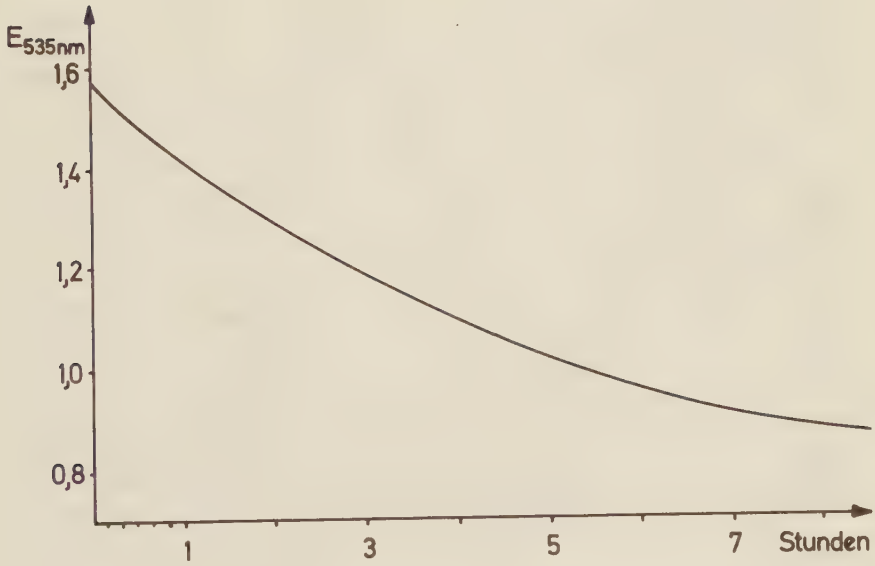


Abb. 8: Intensitätsabnahme mit der Zeit

Wurde die rote Lösung dunkel aufbewahrt, so wurde die Färbung ebenfalls schwächer und veränderte sich über blauviolett nach grau-grünlich. Die nach drei und 48 Stunden mit dieser Lösung

aufgenommenen Spektren zeigen diese Farbverschiebungen deutlich an. Nach 48 Stunden ist das der roten Färbung zuzuordnende Maximum bei 535 nm verschwunden, dafür ist nun ein neues Maximum bei ca. 580 zu erkennen. Bemerkenswert erscheint außerdem, daß das Maximum bei 330 nm mit der Zeit an Höhe zunimmt (siehe folgende Abb.), was nicht auf Hydrochininbildung zurückgeführt werden kann.

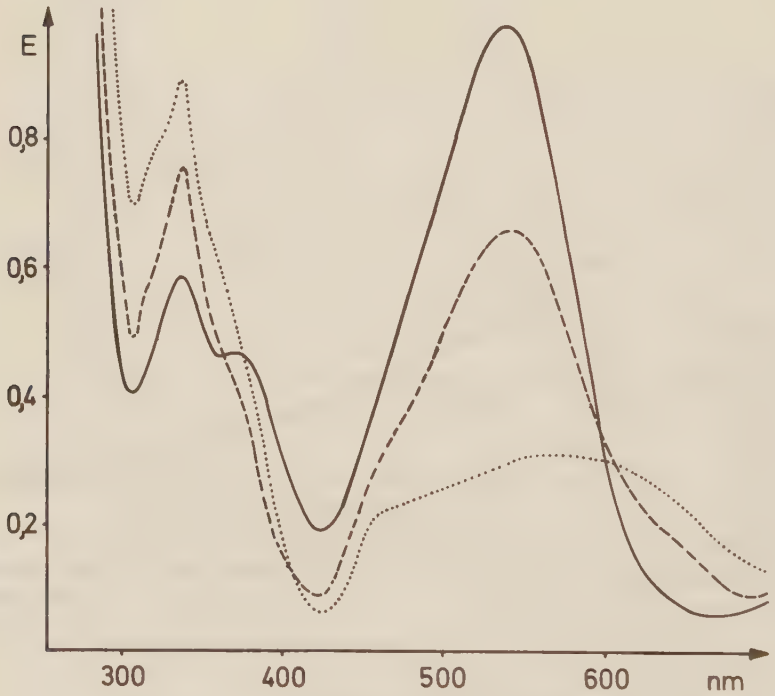


Abb. 9: Farbveränderung beim Stehenlassen
frische Lösung (——), nach 3 Stunden (- -) und nach 48 Stunden gemessen (•••); c = 2,5 • 10^{-4} Mol/l Hydrochinin-HCl

5. Vorschlag für eine optimierte Vorschrift zur Ausführung der Reaktion

Vergleicht man die verschiedenen Ausführungsvarianten der Erythrochin-Reaktion anhand der Extinktionen der dabei auftretenden roten Färbungen miteinander, so ergibt sich folgendes Bild:

Ausführungsart	Extinktionen bei 535 nm
Hydrochinin-HCl, Brom, Natriumacetat	0,32
Hydrochinin-HCl, Brom, verd. Natronlauge	0,40
Hydrochinin-HCl, Brom, verd. Ammoniakflüssigkeit	0,40
Hydrochinin-HCl, Brom, Kaliumhexacyanoferrat(II),Alkali	0,77
Hydrochinin-HCl, Brom, Kaliumhexacyanoferrat(III),Alkali	1,91
Hydrochinin-HCl, Brom, Eisen(III)-chlorid, Alkali	0,45

Nach Zusatz von Kaliumhexacyanoferrat(III) trat die intensivste Färbung auf. Berücksichtigt man außerdem das sichere und schnelle Auftreten der Färbung, erscheint es sinnvoll, die Erythrochin-Reaktion nur auf diese Weise durchzuführen. Eine optimierte Vorschrift könnte folgendermaßen lauten:

Der wässrigen Hydrochininsalzlösung (Chininsalzlösung) wird soviel Bromwasser zugesetzt, daß gemäß dem Reaktionsverlauf für ein Äquivalent Hydrochinin (Chinin) zwei (vier) Äquivalente Brom zur Verfügung stehen. Man gibt dann die zwei Mol entsprechende Menge (bezogen auf das Hydrochinin oder Chinin) Kaliumhexacyanoferrat(III) in wässriger Lösung hinzu. Beim sofort anschließenden Versetzen mit verdünnten Alkalien tritt Rotfärbung auf, die bei deutlich alkalischer Reaktion der Mischung (pH-Wert mindestens 8) vollständig mit Chloroform extrahiert wird.

Wurde die Erythrochin-Reaktion gemäß dieser allgemein gehaltenen Vorschrift ausgeführt, so waren noch etwa 0,05 mg/ml Hydrochinin-Hydrochlorid anhand einer schwach sichtbaren Rotfärbung nachweisbar. Mit Hilfe der sogenannten Thalleiochin-Reaktion waren nur etwa 0,4 mg/ml Hydrochinin-Hydrochlorid zu erkennen, so daß beim Nachweis von Chinaalkaloiden durch die Erythrochin-Reaktion eine Empfindlichkeitssteigerung um etwa einer Zehnerpotenz möglich ist.

In der Praxis hat sich folgende Arbeitsweise bewährt:
Etwa 10 mg Hydrochinin-Hydrochlorid werden in einem ml Wasser gelöst und mit einem ml einer Lösung von 0,4 g Brom in 100 ml Wasser versetzt. Nach kurzem Umschwenken werden 0,5 ml 5%iger Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung zugesetzt und dann sofort ein ml 0,1 n Natronlauge zugetropft. Die auftretende Rotfärbung löst sich beim Schütteln der wässrigen Mischung mit zwei ml Chloroform völlig in der organischen Phase.

III. Untersuchung des roten Produktes

Nachdem im vorstehenden Abschnitt die Bedingungen zur Ausführung der Erythrochin-Reaktion untersucht wurden, soll nun das rote Reaktionsprodukt näher charakterisiert werden. Zunächst war dabei zu untersuchen, ob es sich um einen einheitlichen Stoff oder um verschiedene Substanzen handelt und ob tatsächlich noch unumgesetztes Hydrochinin vorhanden ist, wie nach den bisherigen Untersuchungen vermutet wurde. Auch war gegebenenfalls seine Menge zu bestimmen.

1. Extraktion mit Äther

Einen brauchbaren Hinweis, daß noch unumgesetzte Ausgangssubstanz vorliegen muß, erhielt man, wenn das alkalisch eingestellte, wässrige Reaktionsgemisch statt ausschließlich mit Chloroform zunächst mit Äther und dann erst mit Chloroform extrahiert wurde. Dabei nahm der Ätherauszug eine rot-orange Färbung an, während der Chloroformauszug die bekannte rot-violette Färbung zeigte. Dies ließen auch die sich deutlich voneinander unterscheidenden Absorptionsspektren der beiden Auszüge erkennen: Der Ätherauszug zeigte Maxima bei 510 nm, 380 nm, 330 nm, 315 nm und bei 280 nm. Das Spektrum des Chloroformauszuges entspricht den schon abgebildeten Spektren (siehe Abb. 5) bis auf das Fehlen der im UV-Bereich liegenden Maxima, die das Spektrum von Hydrochinin in diesem Bereich aufweist (vergl. Abb. 6). Unumgesetztes Hydrochinin scheint bei der vorausgehenden Ätherextraktion vollständig aus dem Ansatz entfernt worden zu sein.

Nach dem Entwässern mit frisch geglühtem Natriumsulfat und dem

Abziehen des Lösungsmittels verblieb vom Ätherextrakt ein Rückstand von 21 mg (Mittelwert). Da jeweils etwa 20 mg Hydrochinin-Hydrochlorid eingesetzt wurden, bedeutet dies, daß außer Hydrochinin auch ein erheblicher Anteil des gefärbten Produktes schon mit Äther extrahiert wurde und dabei eine lösungsmittelabhängige Farbverschiebung erfuhr, wie sie das Spektrum des Ätherauszuges

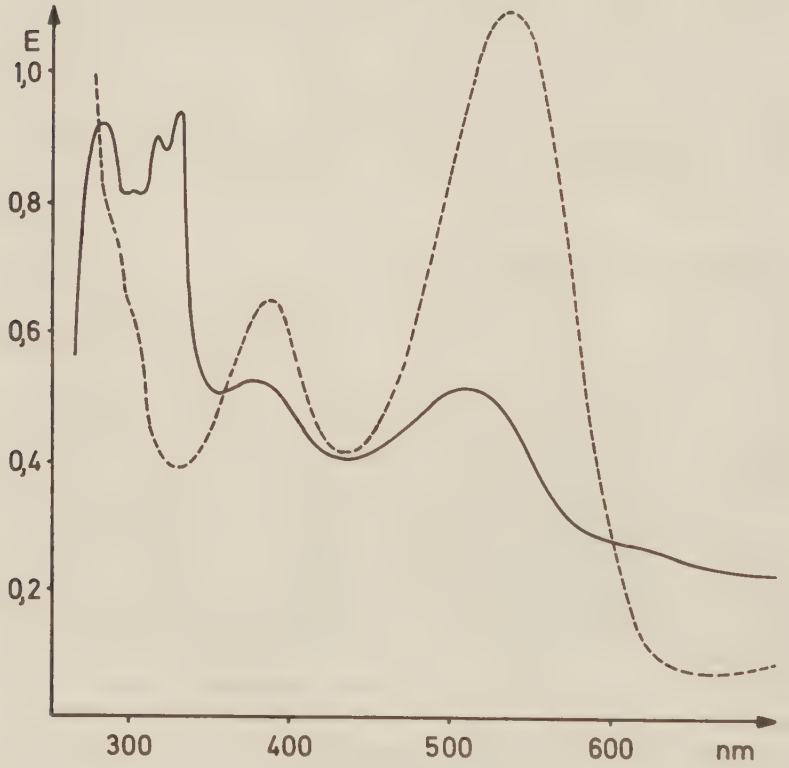


Abb. 10: Absorptionsspektren des Ätherauszugs (——) und des nachfolgenden Chloroformauszugs (- -) c = $5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l Hydrochinin-HCl

ausweist. Ein weiteres Indiz für die teilweise Extraktion des roten Produktes mit Äther bietet das Spektrum des nachfolgenden Chloroformauszuges, das in seinem Hauptmaximum bei 535 nm nicht den gewohnt hohen Extinktionswert zeigt.

Da also neben Hydrochinin auch ein Teil des roten Produktes mit Äther extrahierbar war, war das oben beschriebene Verfahren nicht zu einer quantitativen Bestimmung der verbliebenen Ausgangssubstanz geeignet. Es mußte daher versucht werden, mit Hilfe einer anderen Methode zum Ziele zu kommen.

2. Schichtchromatographie

Wegen der geringen Haltbarkeit der durch Extraktion mit Chloroform gewonnenen roten Lösungen und ihrer für Chromatographieversuche relativ niedrigen Konzentration an rotem Produkt, wurde die Erythrochin-Reaktion nach der auf S. 20 angegebenen optimierten Vorschrift mit konzentrierter Hydrochininhydrochlorid-Lösung ausgeführt, wobei eine rot gefärbte Konzentrationsfällung auftrat. Sie wurde abgenutscht, mit wenig kaltem Wasser nachgewaschen und nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator dunkel aufbewahrt. Von dieser Trockensubstanz konnten bei Bedarf ausreichend konzentrierte Lösungen in Chloroform jeweils frisch hergestellt werden, die auch nach längerem Aufbewahren der Substanz immer das gleiche Absorptionsspektrum aufwiesen, wie es schon in Abb. 5 gezeigt wurde.

Im Filtrat der Fällung waren mit Hilfe des Spektralphotometers kein rotes Produkt oder Hydrochinin mehr nachweisbar, dafür aber neben Hexacyanoferrat(III) wenig Hexacyanoferrat(II); die Cyanoferrate wurden durch die unterschiedliche Löslichkeit ihrer Silbersalze in Ammoniakflüssigkeit oder verdünnter Salpetersäure identifiziert.

Die Dünnschichtchromatographie der aus der roten Trockensubstanz

jeweils frisch hergestellten Chloroformlösung ergab, daß mit neutral reagierenden Fließmitteln keine befriedigende Trennung zu erreichen war. Zwar traten mehrere Flecke von Begleitsubstanzen oder Zersetzungsprodukten auf, das rote Produkt blieb aber immer am Startpunkt. Es wurde jedoch deutlich, daß noch unumgesetztes Hydrochinin vorhanden war. Der R_f-Wert des Hydrochinins unterschied sich aber zu wenig von den R_f-Werten der Begleitsubstanzen, um bei einer präparativen Schichtchromatographie eine saubere Abtrennung zu gewährleisten.

Erst mit Fließmitteln, denen eine alkalisch reagierende Komponente, z.B. Diäthylamin, zugesetzt war, konnte auch das rote Produkt chromatographiert und eine bessere Auftrennung erreicht werden. Allerdings durfte der Basenanteil des Fließmittels nur gering sein, da anderenfalls das Farbprodukt während des Eluierens Zersetzung erlitt und das entwickelte Chromatogramm keinen roten Fleck mehr aufwies. Als geeignet stellte sich eine Mischung von Chloroform und Äthanol (40 + 10) heraus, die mit 5 ml 5%iger Ammoniakflüssigkeit geschüttelt wurde. Auf Kieselgel F_{254}-Fertigplatten "Merck" zeigte das Chromatogramm nach dem Eluieren mehrere durch Färbung und R_f-Wert zu unterscheidende Flecke. Es waren vier rote Flecke vorhanden - der rot-violette Hauptfleck mit einem R_f-Wert von etwa 0,35 - zwei blaue, der eine direkt unter dem roten Hauptfleck und der zweite, nur schwach ausgeprägt mit einem R_f-wert von etwa 0,5, außerdem ein gelblicher Fleck mit R_f = 0,45. Hydrochinin wurde im UV-Licht detektiert, wobei auch eine helle Fluoreszenz im Bereich des gelblichen Flecks zu bemerken war.

Die begrenzte Haltbarkeit von Lösungen des roten Produktes machte sich auch bei der Dünnschichtchromatographie bemerkbar. Wurden die nur wenige Stunden alten Lösungen des roten Farbproduktes chromatographiert, so zeigten die Chromatogramme nur noch schwach den rot-violetten Hauptfleck, dafür aber um so stärker den blauen Fleck mit einem R_f-Wert von 0,5, außerdem einen blau-grünen Fleck mit R_f = 0,55 und einen weiteren blauen Fleck bei R_f = 0,94 (siehe Abb. 11/3).

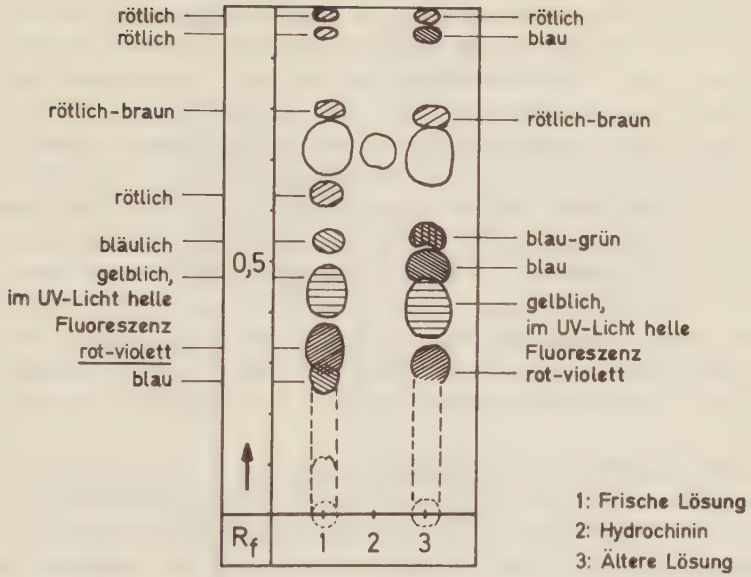


Abb. 11: Schematisches Dünnschichtchromatogramm des roten Produktes
Adsorbens: Kieselgel F_{254}-Fertigplatte "Merck"
Fließmittel: Chloroform/Äthanol/Ammoniakflüssigkeit 5%ig (40 + 10 + 5)

Auch beim Liegenlassen der entwickelten Chromatogramme veränderte sich die Farbe des roten Hauptflecks nach blauen Farbtönen hin - bei offenem Liegenlassen schneller und bei lichtgeschützter Aufbewahrung unter Inertbegasung (Stickstoff) langsamer. Wurden solche Chromatogramme ein zweites Mal - nun aber senkrecht zur ursprünglichen Richtung - chromatographiert, so ergaben sich für die erst nachträglich durch Zersetzung auf der Platte entstandene blaue Färbung gleiche R_f-Werte wie für die durch Zersetzung in Lösungen entstandene Blaufärbung.

Mit Hilfe des oben angegebenen Fließmittels wurde versucht eine präparative Schichtchromatographie auf Kieselgel F_{254}-Fertigplatten für präparative Chromatographie "Merck" durchzuführen. Dazu wurde die rote Trockensubstanz in Chloroform gelöst und bandförmig aufgetragen. Um eine ausreichende Trennung zu erreichen, mußte dreimal hintereinander eluiert werden, wobei das rote Farbprodukt aber Zersetzung erlitt und auf der Platte nur noch eine grünlich-braune Zone hinterließ. Lediglich Hydrochinin und die im UV-Licht hell fluoreszierende Substanz waren befriedigend getrennt. Die entsprechenden Zonen wurden abgeschabt und zunächst unter Verwendung von Chloroform als Lösungsmittel einer Soxhletextraktion unterworfen. Dabei konnte aber nur wenig Substanz gewonnen werden und deshalb wurde die Extraktion - jetzt mit besserem Erfolg - mit Methanol wiederholt.

Der Methanolextrakt der Hydrochininzone (R_f = 0,70) zeigte erwartungsgemäß das Elektronenspektrum des Hydrochinins mit Maxima bei 332 nm, 320 nm und bei 280 nm. Nach dem Eindunsten zur Trockne blieb ein Rückstand entsprechend 24 % der eingesetzten Substanzmenge.

Das Absorptionsspektrum des Methanolauszuges der unter UV-Licht hell fluoreszierenden Zone (R_f = 0,45) zeigte Maxima bei 340 nm und bei 285 nm. Nach dem Abziehen des Lösungsmittels verblieb ein Rückstand von ca. 32 %, der sich bei einer dünnschichtchromatographischen Untersuchung als einheitlich erwies. Es könnte sich hier um dieselbe Substanz handeln, die auftrat, wenn der mit Bromwasser versetzten Hydrochininhydrochlorid-Lösung Natronlauge im Überschuß zugegeben wurde. Das Absorptionsspektrum der dabei entstandenen bräunlichen Mischung zeigte ein Maximum bei 390 nm (vergl. Abb. 6).

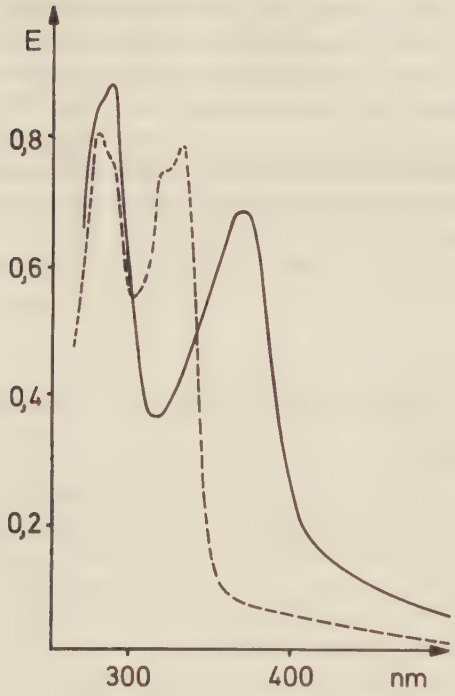


Abb. 12: Absorptionsspektren der Methanolauszüge der Hydrochininzone (- -) und der hell fluoreszierenden Zone (——) nach präparativer Schichtchromatographie

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Charakterisierung des roten Produktes nicht gelang. Die fraktionierte Extraktion des wässrigen Ansatzes mit Äther und Chloroform war nur unvollständig durchführbar, da das rote Produkt in beiden Lösungsmitteln löslich ist. Eine dünnschichtchromatographische Auftrennung des roten Produktes in mehrere Flecke war zwar mit basische Komponenten enthaltenden Fließmitteln möglich, aber bei längerem

Kontakt mit dem Fließmittel erlitt das rote Produkt Zersetzung. Mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie konnte lediglich der Anteil der unumgesetzten Ausgangssubstanz und einer zweiten, unter UV-Licht hell fluoreszierenden Substanz bestimmt werden. Der Anteil des Hydrochinins wurde mit etwa 25 % gefunden, der der unter UV-Licht hell fluoreszierenden Substanz mit etwa 30 %. Die Differenz verteilt sich auf mehrere gefärbte Produkte, davon zwei blaue Substanzen und vier rötliche oder rote Substanzen.

IV. Versuche zur Isolierung von Zwischenprodukten

Da sich das bei der Erythrochin-Reaktion entstehende rote Produkt mit Hilfe von Methoden der Schichtchromatographie nicht isolieren ließ und damit eine nähere Charakterisierung sich als nahezu undurchführbar erwies, wurde im Folgenden versucht, eine oder mehrere Zwischenstufen zu erhalten.

1. Chloroformextraktion des schwach sauren Ansatzes

Solche Zwischenstufen sind nach der Bromwasserzugabe zur wässrigen Hydrochininhydrochlorid-Lösung zu erwarten. Im ersten Teil der Untersuchung wurde die wässrige, gelblich gefärbte Mischung ohne Zugabe von Kaliumhexacyanoferrat(III) und ohne Alkalisieren mit Chloroform ausgeschüttelt. Da, wie schon oben beschrieben, die Vorstufe des roten Produktes in wässriger Lösung sehr unbeständig ist und dann die gewünschte Farbreaktion kaum noch auftritt, war schnelles Arbeiten geboten und eine erschöpfende Extraktion von vornherein nicht möglich. Aber auch bei der kurzen Extraktion nahm das Chloroform eine gelbliche Färbung an. Nach dem Entwässern mit frisch geglühtem Natriumsulfat und dem Abziehen des Lösungsmittels bei Raumtemperatur und vermindertem Druck verblieb ein bräunlich-gelber Rückstand. Die Ausbeute betrug im Verhältnis zur eingesetzten Hydrochininhydrochloridmenge etwa 15 %, worin aber noch ein beträchtlicher Hydrochininhydrochloridanteil, das in Chloroform gut löslich ist, enthalten ist (s.u.).

Eine Probe des entwässerten Chloroformextraktes gab beim Schütteln mit stark verdünnter Natronlauge die bekannte Rotfärbung. Das Elektronenspektrum dieser rot gefärbten Chloroformlösung

zeigte Maxima bei 530 nm und 332 nm und eine Schulter bei ca. 390 nm. Somit wird deutlich, daß die gebildete Zwischenstufe tatsächlich - wenn auch nur in geringem Umfange - aus dem schwach sauren Ansatz gewonnen werden kann.

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen des Eindampfrückstandes vom Chloroformextrakt des sauren Ansatzes ergaben,

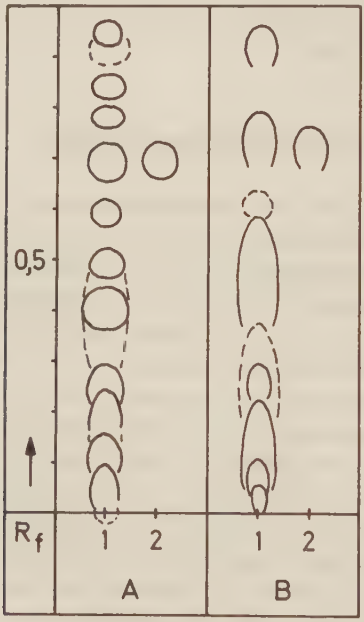


Abb. 13: Schematisches Dünnschichtchromatogramm des Chloroformextraktes der Vorstufe
Adsorbens: Kieselgel F_{254}-Fertigplatte "Merck"
Fließmittel A: Chloroform/Äthanol/Ammoniakflüssigkeit 5 % (40 + 10 + 5)
Fließmittel B: Chloroform/Äthanol (40 + 10)

daß eine befriedigende Trennung nur mit dem weiter oben angegebenen Fließmittel Chloroform/Äthanol/Ammoniakflüssigkeit 5%ig möglich war. Auf Kieselgel F_{254}-Fertigplatte "Merck" zeigte das Chromatogramm ca. neun Flecke, unter ihnen mit einem R_f-Wert von etwa 0,7 Hydrochinin und mit einem R_f-Wert von 0,45 ein gelblicher Fleck, der im UV-Licht hell fluoreszierte, ähnlich dem bei der dünnschichtchromatographischen Untersuchung des roten Produktes beobachteten Fleck von gleichem R_f-Wert.

Wegen der geringen Ausbeute bei der oben beschriebenen Chloroformextraktion und der begrenzten Haltbarkeit des Rückstandes - nach kurzer Zeit der Aufbewahrung gab die Substanz beim Wiederauflösen in Chloroform und Schütteln mit verdünnter Natronlauge nicht mehr die Farbreaktion - wurde versucht, auf einem anderen Weg zum Ziel zu gelangen.

2. Ausführung der Reaktion in Chloroform

a) Spektroskopische Untersuchung und Bedingungen für das Auftreten der roten Färbung

Da die gesuchte Zwischenstufe teilweise mit Chloroform extrahiert werden konnte und außerdem das rote Farbprodukt gut in Chloroform löslich ist, wurde die Reaktion in diesem Lösungsmittel ausgeführt. Dazu wurde Hydrochinin-Hydrochlorid in Chloroform gelöst und mit der zwei Mol entsprechenden Menge Broms - ebenfalls in Chloroform gelöst - versetzt. Es entstand eine gelb gefärbte Lösung. Das Elektronenspektrum dieses Ansatzes zeigte Maxima bei 352 nm und 315 nm mit einer flachen Schulter bei ca. 300 nm, wogegen das Elektronenspektrum des Hydrochinins Maxima bei 335 nm, 320 nm und bei 280 nm aufweist.

Da die Vermutung nahe lag, daß noch unverändertes Hydrochinin-Hydrochlorid vorhanden war, und somit das erhaltene Spektrum sich additiv aus den Spektren der einzelnen Komponenten zusam-

mensetzte, wurde in weiteren Messungen nicht das reine Lösungsmittel, sondern eine Lösung von Hydrochinin-Hydrochlorid in Chloroform als Vergleich benutzt. Nun ergab sich die tatsächliche Lage der Absorptionsmaxima der gelben Lösung bei 356 nm und bei 302 nm mit einer Schulter bei etwa 310 nm. Das Spektrum weist somit - bezogen auf die Absorptionsmaxima von Hydrochinin eine Rotverschiebung von ca. 20 nm auf. Wegen der offensichtlich zu hoch gewählten Hydrochininhydrochlorid-Konzentration ist das Spektrum unvollständig.

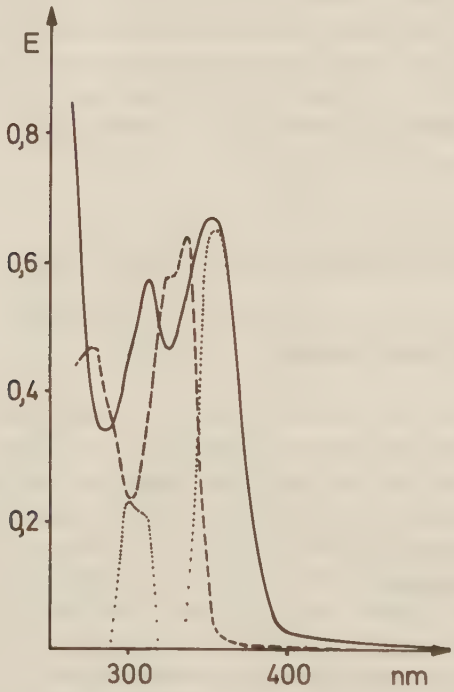


Abb. 14: Absorptionsspektrum des gelben Chloroformansatzes mit Chloroform (——) und einer Hydrochinin-HCl-Lösung in Chloroform als Vergleich (•••), Hydrochinin-HCl (- -) $c = 1{,}25 \cdot 10^{-5}$ Mol/l Hydrochinin-HCl

Aus dem gelb gefärbten Chloroformansatz schieden sich bei Stehenlassen, schneller jedoch nach Einengen bei Raumtemperatur und vermindertem Druck reichlich gelbliche Nadeln ab. Sie wurden abfiltriert, nach dem Waschen mit wenig Chloroform getrocknet und im Exsikkator aufbewahrt. Diese Kristalle waren in Chloroform nur noch schwer wieder in Lösung zu bringen, in Methanol dagegen war die Löslichkeit sehr gut.

Die durch Zusammengeben von Hydrochinin-Hydrochlorid und Brom - jeweils in Chloroformlösung - erhaltene gelbe Lösung ergab beim Schütteln mit verdünnter Natronlauge oder verdünnter Ammoniakflüssigkeit oder beim Zutropfen von Pyridin nicht die gewünschte Farbreaktion. Wurde dagegen die gelb gefärbte Chloroformlösung zunächst mit Wasser geschüttelt und dann die wässrige Phase, die dabei eine schwache gelbliche Färbung annahm, tropfenweise mit verdünntem Alkali versetzt, so trat die bekannte Rotfärbung auf. Ebenso konnte durch Zusatz von Kaliumhexacyanoferrat(III) vor dem Alkalisieren eine starke Rotfärbung erhalten werden. Das rote Produkt war auch hier nur bei ausreichender Alkalikonzentration in Chloroform löslich.

Das gleiche Verhalten zeigten die aus dem gelben Chloroformansatz gewonnenen Kristalle, wenn sie in Chloroform gelöst wurden und dann der oben beschriebenen Behandlung unterworfen wurden. Wurden die Kristalle mit verdünnter Natronlauge übergossen, so war keine Rotfärbung sichtbar. Wurden sie aber zunächst in Wasser suspendiert und dann tropfenweise Alkali zugegeben, so trat eine rötlich gefärbte Fällung auf, die sich beim Schütteln mit Chloroform mit kräftig roter Farbe in diesem löste.

Wurde nicht Hydrochinin-Hydrochlorid, sondern die Alkaloid-Base in Chloroform gelöst und mit Brom - ebenfalls in Chloroform gelöst - versetzt, so entstand auch eine gelb gefärbte Lösung, die nur unter den oben angegebenen Bedingungen die Farbreaktion gab: Beim Schütteln mit verdünnten Alkalien trat keine Färbung

auf. Erst wenn die Chloroformlösung zuvor mit Wasser geschüttelt wurde, konnte beim Alkalisieren der wässrigen Phase eine rote Färbung beobachtet werden. Durch Zusatz von Kaliumhexacyanoferrat(III) vor dem Alkalisieren wurde eine intensivere Rotfärbung erreicht. Die so erzielten Färbungen hatten wie gewohnt ihr Absorptionsmaximum bei 535 nm, waren aber schwächer als die beim entsprechenden Einsetzen von Hydrochinin-Hydrochlorid beobachteten Färbungen. Erst wenn die wässrige Extraktion des chloroformhaltigen Ansatzes von Hydrochinin-Base statt mit reinem Wasser mit stark verdünnter Salzsäure durchgeführt wurde, waren die dann zu erreichenden Farbintensitäten etwa von der gleichen Größenordnung wie oben für Hydrochinin-Hydrochlorid beschrieben.

Aus dem Chloroformansatz mit Hydrochinin-Base wurde nach Abziehen des Lösungsmittels ein fester Rückstand gewonnen, der einer Methoxylgruppenbestimmung und einer Brombestimmung unterworfen wurde. Die Ergebnisse dieser Analysen deuten darauf hin, daß im Chloroformansatz beim Versetzen von Hydrochinin mit zwei Äquivalenten Brom ein monobromsubstituiertes Hydrochinin entsteht, das als Hydrobromid vorliegen muß. Der in der Methoxylgruppenbestimmung gefundene Wert von 6,25 % stimmt mit dem für $C_{20}H_{25}N_2O_2Br \cdot HBr$ berechneten Wert von 6,18 % gut überein, während der in der Brombestimmung gefundene Wert von 40,96 % mit dem berechneten Wert von 32,87 % nur in etwa übereinstimmt, aber doch nur einem Bromhydrochinin-Hydrobromid zugeordnet werden kann.

Die Voraussetzungen, unter denen mit den Chloroformansätzen oder den daraus zu gewinnenden Kristallen die zu untersuchende Farbreaktion positiv verläuft, machen deutlich, daß die eigentliche Vor- oder Zwischenstufe des roten Produktes sich erst in wässrigem Milieu bildet. In diesem ist sie jedoch, wie bereits im Abschnitt II beschrieben, sehr unbeständig und läßt sich, wie wiederholte Versuche bestätigten, auch nach sehr kurzer Aufbewahrung in Lösung nicht mehr zum roten Produkt umsetzen.

Der gelbe Chloroformansatz aber und die daraus zu gewinnenden Kristalle sind stabil, so daß auch noch nach längerer Aufbewahrung die Farbreaktion durchführbar war.

b) Dünnschichtchromatographische Untersuchung

Es wurden dünnschichtchromatographische Untersuchungen der Chloroformansätze - Hydrochinin einerseits und sein Hydrochlorid andererseits - bzw. von Chloroformlösungen der aus diesen Ansätzen zu gewinnenden Kristalle an verschiedenen Sorptionsschichten durchgeführt. Eine befriedigende Auftrennung in mehrere Flecke gelang nur mit alkalisch reagierenden Fließmitteln wie etwa dem im Abschnitt III bei der Untersuchung des roten Produktes angegebenen Elutionsmittel Chloroform/Äthanol/Ammoniakflüssigkeit (5%ig). Nach dem Chromatographieren mit diesem Fließmittel zeigte das Chromatogramm auf Kieselgel F_{254}-Fertigplatten "Merck" sieben Flecke, darunter mit einem R_f-Wert von 0,65 Hydrochinin, das durch Betrachten unter UV-Licht detektiert wurde. Da bei diesem Fließmittel und ähnlichen, eine basische Komponente enthaltenden Fließmitteln Zersetzungserscheinungen oder unerwünschte Reaktion der zu untersuchenden Substanz mit der im Fließmittel enthaltenen basischen Komponente zu befürchten waren, wurde versucht, doch mit einem aus neutral reagierenden organischen Lösungsmitteln zusammengesetzten Fließmittel zum Ziel zu gelangen. Eine wirklich befriedigende Trennung war mit solchen Fließmitteln kaum möglich, denn entweder blieb die Substanz überhaupt am Start sitzen oder aber es war keine Auftrennung in einzelne Flecke mit definiertem R_f-Wert zu erreichen, sondern es traten ineinanderübergreifende Zonen auf. Noch relativ brauchbar scheint das Fließmittel Chloroform/Äthanol zu sein, das eine Auftrennung der Substanz in etwa acht, bei der Detektion unter UV-Licht voneinander zu unterscheidende Zonen ergibt, darunter mit einem R_f-Wert von etwa 0,8 Hydrochinin.

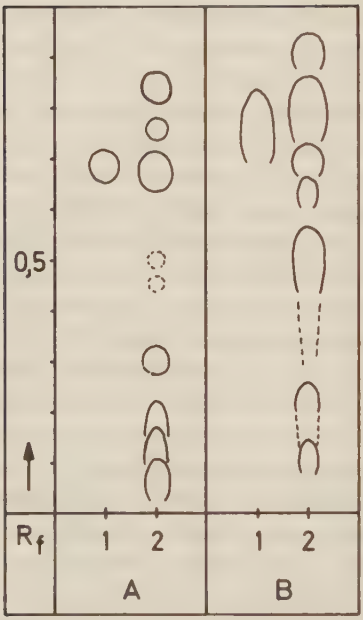


Abb. 15: Schematisches Dünnschichtchromatogramm des Chloroformansatzes
Adsorbens: Kieselgel F_{254}-Fertigplatte "Merck"
Fließmittel A: Chloroform/Äthanol/Ammoniakflüssigkeit 5%ig (40 + 10 + 5)
Fließmittel B: Chloroform/Äthanol (40 + 10)

Durch die Chromatographieversuche wurde die bei der Diskussion des Elektronenspektrums des Chloroformansatzes ausgesprochene Vermutung, daß noch unverändertes Hydrochinin-Hydrochlorid vorliegen müsse, bestätigt.

In Nachahmung der Bedingungen, unter denen der Chloroformansatz im Reagenzglas die Farbreaktion gibt, wurde versucht, durch Vor-

sprühen des Chromatogramms mit Wasser und anschließendem Besprühen mit stark verdünnter Natronlauge den Fleck der Zwischenstufe, der dann eine Rot- oder zumindest Rötlichfärbung zeigen sollte, zu detektieren. Auch wenn vor dem Besprühen mit Natronlauge zusätzlich mit Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung vorgesprüht wurde, war keine Reaktion festzustellen. Durch Tüpfeln der einzelnen Flecke mit Wasser und Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung, anschließend mit verdünnter Natronlauge, war der Fleck der gesuchten Zwischenstufe ebenfalls nicht zu detektieren. Da dieses Tüpfeln vor dem Chromatographieren gelang, muß angenommen werden, daß während des Chromatographierens Zersetzung eingetreten war.

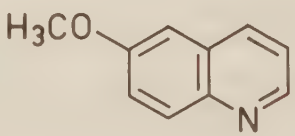
Die Versuche, mögliche Zwischenstufen zu isolieren, waren nicht erfolgreich. Noch vor dem Alkalisieren durchgeführte Chloroformextraktion der mit Brom versetzten wässrigen Hydrochininhydrochlorid-Lösung erbrachte ein Substanzengemisch, das aber auf Grund schlechter Ausbeute und geringer Haltbarkeit nicht weiter untersucht werden konnte. Bei Ausführung der Reaktion in Chloroform entstanden ebenfalls mehrere Substanzen, die aber nicht unmittelbar als Zwischenprodukte des Farbstoffes anzusprechen waren. Erst in Gegenwart von Wasser konnte die Farbreaktion durchgeführt werden. Da eine befriedigende chromatographische Trennungsmethode für die Substanzen des Chloroformansatzes nicht gefunden wurde, war auch hier eine Isolierung von Zwischenprodukten nicht möglich.

V. Untersuchung der Erythrochin-Reaktion an Modellsubstanzen

Wie in der Literatur angegeben und eingangs erwähnt[9] geben nur solche Chinaalkaloide eine positive Erythrochin-Reaktion, welche in 6-Stellung am Chinolinkern eine Alkoxygruppe tragen. Daraus geht hervor, daß der entscheidende Molekülanteil für einen positiven Reaktionsausfall der in 6-Stellung alkoxylierte Chinolinkern sein muß. Zur weiteren Untersuchung der Erythrochin-Reaktion schien es daher sinnvoll, mit entsprechend substituierten Chinolinderivaten zu arbeiten.

1. Reaktionsbedingungen bei 6-Methoxychinolin

Das im Chinin, Hydrochinin oder Chinidin enthaltene Chinolinderivat ist das 6-Methoxychinolin.



Es ist in einer von T. IWAMIYA[17] modifizierten SKRAUP'schen Chinolinsynthese aus p-Anisidin, Nitrobenzol, Glycerin und Schwefelsäure zugänglich. Sein Hydrochlorid wurde ähnlichen Versuchen, wie sie im Abschnitt II dieser Arbeit für Hydrochininhydrochlorid beschrieben sind, unterworfen.

---

17) T. IWAMIYA, J. pharmac. Soc. Japan 49, 119 (1929) ref. C. 1929, 2564

Ein Mol 6-Methoxychinolin benötigt ebenfalls erwartungsgemäß ein Mol Brom, um eine maximale Färbung zu ergeben. Geringere oder größere Brommengen ergeben schwächere Färbungen. Es wurde auch hier die Beobachtung gemacht, daß das durch Bromzugabe zum 6-Methoxychinolin entstehende Zwischenprodukt der roten Färbung in Gegenwart von Wasser sehr instabil ist. Auch hier muß die Reaktion sofort weitergeführt werden; verzögerte Reagenzienzugabe hat schwächere - oder je nach der verstrichenen Zeit - keine Rotfärbung zur Folge.

Wie beim Hydrochinin ist das Auftreten der Färbung pH-abhängig und damit die Art des zur Einstellung des pH-Wertes angewandten Alkali von untergeordneter Bedeutung. Die mit Bromwasser versetzte 6-Methoxychinolinhydrochloridlösung zeigt saure Reaktion bei etwa pH 2. Beim langsamen tropfenweisen Zugeben eines Alkalisierungsmittels beginnt ab pH-Werten über 3 die Rotfärbung aufzutreten. Mit zunehmendem pH-Wert tritt eine dunkle Fällung auf, die sich mit Chloroform extrahieren läßt und sich in diesem mit rot-oranger Farbe löst. Im Bereich des Neutralpunktes ist diese Färbung am ausgeprägtesten. Bei pH-Werten größer als 8 wird die Färbung schwächer, und die wässrige Mischung beginnt sich bräunlich zu verfärben. Oberhalb von pH 9,5 hat die Mischung eine grünlich-braune Farbe angenommen und in Chloroform ist keine rote Färbung mehr zu erkennen. Wird das Alkali rasch zugefügt, so treten die Verfärbungen schon bei niedrigeren pH-Werten auf.

Wird die Reaktion in Anlehnung an die für Hydrochininhydrochlorid ausgearbeitete Ausführungsvorschrift unter Zusatz von Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung durchgeführt, so kann auch beim 6-Methoxychinolin ein beschleunigender und stabilisierender Effekt dieses Reagenzes beobachtet werden: Die Alkaliempfindlichkeit der roten Färbung ist reduziert, und man kann ohne Schwierigkeiten mit nicht zu großem Alkaliüberschuß arbeiten, so daß die Chloroformextraktion der roten Färbung besser gelingt. Die Färbungen, die nach Hexacyanoferrat(III)-Zusatz auftreten, sind um 50 bis 60 Prozent intensiver, als ohne diesen Zusatz.

Die Absorptionsspektren der gefärbten Chloroformextrakte mit und ohne Zusatz von Kaliumhexacyanoferrat(III) unterscheiden sich in der Höhe der maximalen Extinktionen, gleichen sich aber nahezu in der Lage der Maxima. Diese finden sich bei ca. 505 nm, bei 375 nm (ein nur wenig ausgeprägtes Maximum, das in manchen Spektren nur als Schulter auftritt), bei 328 nm, bei 300 nm ebenfalls ein kleines Maximum und schließlich bei 275 nm mit

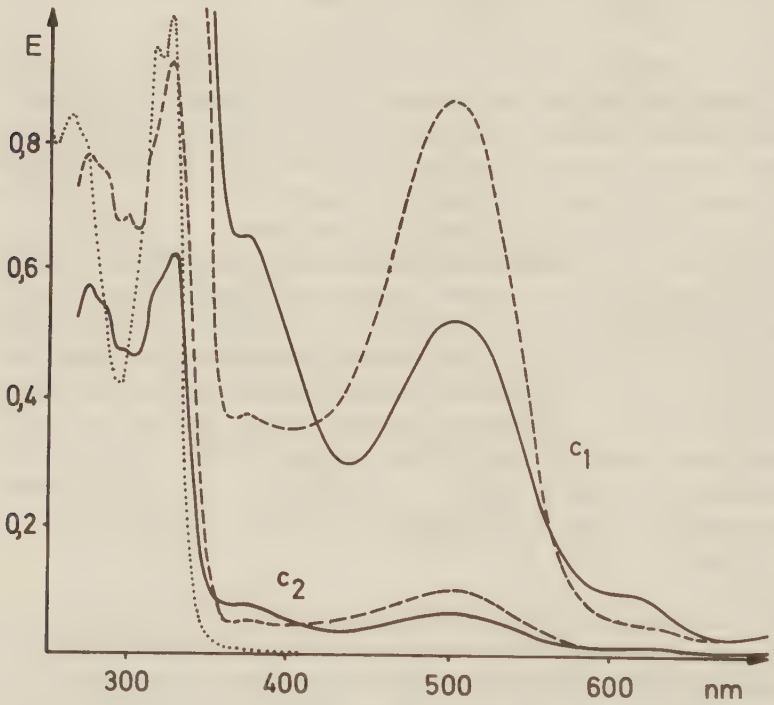


Abb. 16: Spektrum der roten Färbung mit 6-Methoxychinolin ohne Zusatz von Kaliumhexacyanoferrat(III) (——) und mit Zusatz von Kaliumhexacyanoferrat(III) (- -), c_1 = $2 \cdot 10^{-3}$ Mol/l, c_2 = $4 \cdot 10^{-4}$ Mol/l 6-Methoxychinolin. 6-Methoxychinolin in Chloroform (···) c = $2{,}5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l

einer Schulter bei ca. 285 nm. Wenn die Chloroformextraktion etwas längere Zeit in Anspruch nahm, so erscheint im Spektrum bei ca. 620 nm zusätzlich eine Schulter. Im Vergleich dazu zeigt 6-Methoxychinolin (als Base) nur Maxima bei 330 nm und bei 262 nm. Die Haltbarkeit der roten Färbung ist hier auch ähnlich wie bei Hydrochinin. Beim Stehenlassen an Licht ändert sich die Farbe innerhalb von zwei bis drei Stunden nach blauviolett. Das Absorptionsspektrum weist im sichtbaren Bereich dann nur noch ein Maximum bei 572 nm auf, mit einer Schulter bei ca. 540 nm, im UV-Bereich sind die o.a. Maxima unverändert vorhanden. Wird der rot gefärbte Chloroformextrakt dagegen dunkel aufbewahrt, so verringert sich lediglich die Intensität der Färbung - nach einwöchiger Aufbewahrung sind noch über 60 % der ursprünglichen Intensität meßbar - während im UV-Bereich die Extinktionswerte bei gleicher Lage der Maxima unbedeutend zunahmen.

Die Erythrochin-Reaktion mit Hydrochinin einerseits und mit 6-Methoxychinolin andererseits geben unterschiedliche Rotfärbungen, was sich auch in der Lage der Absorptionsmaxima widerspiegelt: Hydrochinin zeigt Rotfärbung, die bei 535 nm absorbiert, während die mit 6-Methoxychinolin entstandene Rotfärbung bei 505 nm absorbiert.

2. Untersuchung möglicher Zwischenprodukte

Im Verlauf der weiteren Untersuchung wurde versucht, mögliche Vorstufen, die bei der einfacher gebauten Modellsubstanz leichter zugänglich sein sollten, zu synthetisieren und ihr Verhalten in der Erythrochin-Reaktion zu überprüfen.

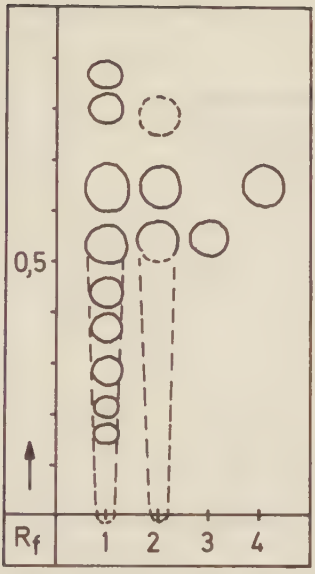
Beim 6-Methoxychinolin erfolgt bei elektrophiler Substitution - wie bei anderen Chinolinabkömmlingen auch - der Angriff der Substituenten zumeist am Benzolkern des Chinolinsystems. Als Substituent erster Ordnung dirigiert die in 6-Stellung stehende

Methoxygruppe neu hinzutretende Substituenten in o- oder p-Stellung. Da die p-Stellung durch den Ringschluß blockiert ist, kann hier nur o-Substitution stattfinden, wobei aber keine Gleichwertigkeit der beiden theoretisch möglichen o-Stellungen vorliegt und der neue Substituent bei präparativem Arbeiten nur am C-5 eintritt. Es besteht hier Analogie zu den β-Naphtholen, bei denen festgestellt wurde, daß auf Grund des kürzeren Bindungsabstandes im Ring ebenfalls nur die entsprechende o-Stellung substituiert wird[18].

Wird entsprechend den Reaktionsbedingungen für die Erythrochin-Reaktion 6-Methoxychinolin mit zwei Äquivalenten Brom versetzt, so ist als Vorstufe 5-Brom-6-methoxychinolin zu erwarten. Wurden der mit Bromwasser versetzten 6-Methoxychinolinlösung nicht die zur Durchführung der Farbreaktion notwendigen Reagenzien zugesetzt, sondern statt dessen der schwach saure, wässrige Ansatz schnell mit einem größeren Volumen Chloroform extrahiert, so war in diesem Chloroformextrakt neben unumgesetzten 6-Methoxychinolin tatsächlich 5-Brom-6-methoxychinolin dünnschichtchromatographisch nachweisbar. Ebenso war 5-Brom-6-methoxychinolin im Dünnschichtchromatogramm des Chloroformansatzes, der mit einer Chloroformlösung von 6-Methoxychinolin-Hydrochlorid und einer Lösung von Brom in Chloroform gewonnen wurde, nachzuweisen. Dieser Chloroformansatz gab, ähnlich wie der Chloroformansatz mit Hydrochinin, erst eine Farbreaktion, wenn er zunächst mit Wasser geschüttelt wurde und dann der wässrigen Phase die erforderlichen Reagenzien zugefügt wurden.

---

18) L.F. FIESER und M. FIESER, Organische Chemie, Verlag Chemie GmbH Weinheim, 1965, S. 1078



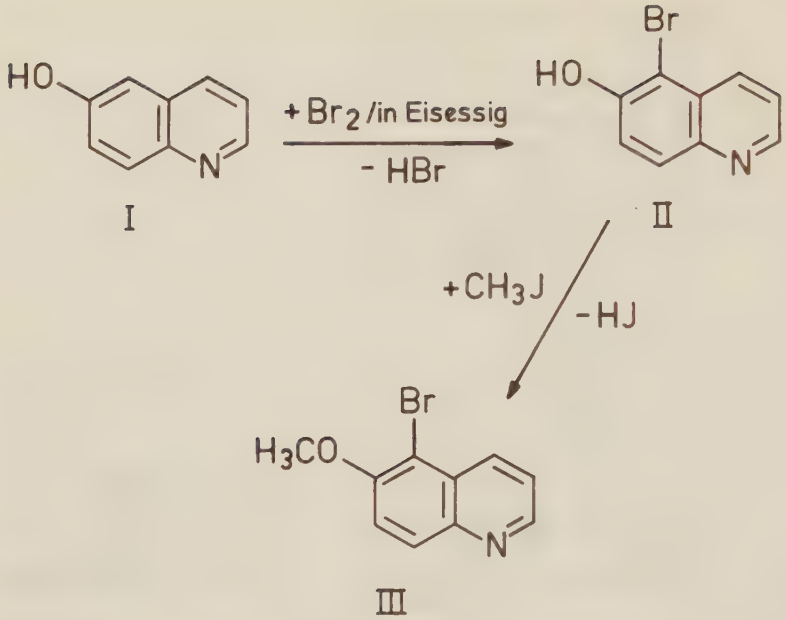
1: Chloroformextrakt
2: Chloroformansatz
3: 6-Methoxychinolin
4: 5-Brom-6-methoxychinolin

Abb. 17: Schematisches Dünnschichtchromatogramm des sauren Chloroformextraktes und des Chloroformansatzes
Adsorbens: Kieselgel F_{254}-Fertigplatte "Merck"
Fließmittel: Benzol/Methanol (95 + 5)

5-Brom-6-methoxychinolin(III) ist nach J. HOWITZ und M. BÄRLOCHER[19] durch Verätherung von 5-Brom-6-hydroxychinolin(II) zugänglich. 5-Brom-6-hydroxychinolin wurde nach A. CLAUS und H. HOWITZ[20] durch Bromieren von 6-Hydroxychinolin in Eisessig gewonnen. 6-Hydroxychinolin(I) schließlich wurde mit Hilfe einer von G.W. HARGREAVES[21] modifizierten SKRAUP'schen Chinolinsynthese aus Glycerin, p-Aminophenol, p-Nitrophenol und konzentrierter Schwefelsäure dargestellt.

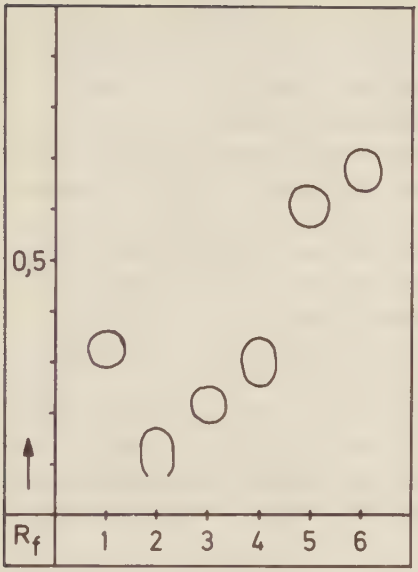
---

19) J. HOWITZ u. M. BÄRLOCHER Ber. dtsch. chem. Ges. 36,459 (1903)
20) A. CLAUS u. H. HOWITZ, J. pr. (2) 44, 439 (1891)
21) G.W. HARGREAVES, J.Amer.pharmac.Assoc.sci.Edit. 15, 751 (1926)



Daß tatsächlich 5-Brom-6-hydroxychinolin erhalten wurde, zeigte das NMR-Spektrum, da das Signal für das Proton am C-5 hier fehlte, im NMR-Spektrum des 6-Hydroxychinolins aber eindeutig vorhanden war. Die synthetisierten Substanzen konnten dünnschichtchromatographisch gut getrennt werden. Abbildung siehe folgende Seite.

6-Hydroxychinolin(I) wurde unter den Bedingungen, wie sie für Hydrochinin optimiert wurden, der Erythrochin-Reaktion unterworfen, ergab aber keine Rotfärbung. Auch wenn unter verschärften Bedingungen z.B. Erwärmen, unter Änderung der Reihenfolge der Reagenzienzusätze oder unter Erhöhung des Brom- und Kaliumhexacyanoferrat(III)-Zusatzes versucht wurde, 6-Hydroxychinolin zur gewünschten Reaktion zu bringen, trat in keinem Fall eine rote Färbung auf. Bei Verwendung von Ammoniakflüssigkeit als



1: p-Nitrophenol
2: p-Aminophenol
3: 6-Hydroxychinolin (I)
4: 5-Brom-6-hydroxychinolin (II)
5: 6-Methoxychinolin
6: 5-Brom-6-methoxychinolin (III)

Abb. 18: Schematisches Dünnschichtchromatogramm der synthetisierten Chinolinderivate
Adsorbens: Kieselgel F_{254}-Fertigplatte "Merck"
Fließmittel: Benzol/Methanol (95 + 5)

Alkalisierungsmittel trat, sobald ein geringer Überschuß davon vorhanden war, eine schwache grüne Färbung auf, wie dies schon H. FÜHNER[22] bei seiner Untersuchung der Thalleiochin-Reaktion mit 6-Hydroxychinolin als Modellsubstanz beschrieben hat. Wurde die Substanz unter den von H.J. PANKOW[23] für die Thalleiochin-Reaktion festgelegten Bedingungen, mit vier Äquivalenten Brom und mit einem reichlichen Überschuß Ammoniakflüssigkeit umgesetzt, so trat sofort eine kräftige smaragdgrüne Färbung auf.

---

22) H. FÜHNER, Arch. Pharmaz. 244, 602 (1906)
23) H.J. PANKOW, Diss. Tübingen 1966

Die ebenfalls von H.J. PANKOW[23] gefundene Vorstufe der grünen Färbung der Thalleiochin-Reaktion, das 5,5-Dihalogen-6-ketochinolin, kommt aus theoretischen Erwägungen als Vorstufe der Erythrochin-Reaktion nicht in Betracht. Zwar wird bei beiden Reaktionen mit Brom- oder Chlorwasser gearbeitet, doch wird zur Ausführung der Erythrochin-Reaktion mit zwei Äquivalenten Halogen umgesetzt, während für die Thalleiochin-Reaktion vier Äquivalente benötigt werden. Weiter ist das Auftreten der Grünfärbung der Thalleiochin-Reaktion an die Zugabe von Ammoniakflüssigkeit im Überschuß gebunden und es sind außerdem keine weiteren Reagenzien notwendig. Andere Alkalisierungsmittel geben nicht die gewünschte Reaktion. Bei der Erythrochin-Reaktion dagegen dient Ammoniakflüssigkeit oder andere Alkalisierungsmittel nur zur Einstellung eines optimalen pH-Bereichs für die Reaktion, in deren Verlauf die rote Färbung auftritt. Durch Zusatz von Kaliumhexacyanoferrat(III) als Oxidationsmittel kann das Auftreten der roten Färbung wesentlich beschleunigt und intensiviert werden.

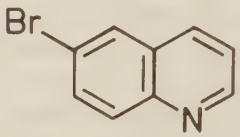
Als wichtigstes Argument gegen das mögliche Auftreten des 5,5-Dihalogen-6-ketoproduktes als Vorstufe in der Erythrochin-Reaktion ist der Befund zu werten, daß die Thalleiochin-Reaktion mit allen China-Alkaloiden und Chinolinabkömmlingen gelingt, die in 6-Stellung des Chinolinringsystems eine oxidable Funktion tragen - also auch hydroxyliert sind wie das 6-Hydroxychinolin, während die Erythrochin-Reaktion nur mit solchen China-Alkaloiden und Chinolinabkömmlingen gelingt, die in 6-Stellung des Chinolinringsystems eine Alkoxygruppe besitzen. So gibt Cuprein, ein Chinaalkaloid, das in 6-Stellung des Chinolinringsystems eine unverätherte Hydroxylgruppe besitzt, wenn es den Versuchsbedingungen der Erythrochin-Reaktion unterworfen wird, keine Rotfärbung. Dieser Befund und das Verhalten von 6-Hydroxychinolin unter den Reaktionsbedingungen bestätigen die obigen Überlegungen.

5-Brom-6-hydroxychinolin(II) sollte, wenn es als Zwischenstufe der Erythrochin-Reaktion auftritt, schon bei langsamer Zugabe eines Alkalisierungsmittels eine rote Färbung geben; dies war nicht der Fall. Wurde vor dem Zusatz eines Alkalisierungsmittels zunächst Kaliumhexacyanoferrat(III) zugesetzt, so trat ebenfalls keine Rotfärbung auf. Folglich kann das 5-Brom-6-hydroxychinolin nicht die Vorstufe des roten Produktes sein. Selbst wenn nochmals mit Brom versetzt wurde, konnte unter den Reaktionsbedingungen der Erythrochin-Reaktion keinerlei Rotfärbung erreicht werden. Das bromierte Produkt entspricht in seinem Verhalten dem unsubstituierten und gibt wie dieses unter den Reaktionsbedingungen der Thalleiochin-Reaktion Grünfärbung.

5-Brom-6-methoxychinolin wurde als die postulierte Vorstufe und in den verschiedenen Ansätzen auch nachweisbare Substanz besonders gründlich untersucht: Als Vorstufe sollte es schon beim Behandeln mit Alkali eine Färbung geben, aber selbst wenn mit verdünnter Lauge erwärmt wurde trat keine Färbung auf. Wenn die Substanz zunächst mit Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung versetzt und dann Alkali zugegeben wurde, trat ebenfalls keine Färbung auf. Wurde die Lösung von 5-Brom-6-methoxychinolin in Chloroform mit Wasser geschüttelt und der wässrigen Phase die für ein Gelingen der Erythrochin-Reaktion notwendigen Reagenzien zugefügt, so war auch hier keine Färbung zu beobachten. Somit kann die Möglichkeit, daß sich die Vorstufe des roten Produktes erst unter diesen Bedingungen aus 5-Brom-6-methoxychinolin bildet, ausgeschlossen werden. 5-Brom-6-methoxychinolin tritt also nur als Neben- oder Begleitprodukt in der Erythrochin-Reaktion auf. Erstaunlich war aber, daß nach erneutem Bromzusatz und Einhalten der für die Erythrochin-Reaktion optimierten Vorschrift ebenfalls keine Färbung zu erzielen war, obwohl die unsubstituierte Substanz, 6-Methoxychinolin, unter diesen Bedingungen reagiert.

Außer der oben diskutierten o-Bromsubstitution von Hydrochinin oder der Modellsubstanz 6-Methoxychinolin bei Zugabe von Brom-

wasser war denkbar, daß Brom die Methoxygruppe verdrängt und selbst an ihre Stelle tritt. Es müßte dabei ein 6-Brom-hydrochinin bzw. 6-Bromchinolin entstehen.



6-Bromchinolin wurde in einer von LA COSTE[24] modifizierten SKRAUP'schen Synthese dargestellt und den Reaktionsbedingungen der Erythrochin-Reaktion unterworfen. Da 6-Bromchinolin bei Raumtemperatur eine ölige Flüssigkeit ist, die sich nicht in Wasser löst, wurde die Substanz in verdünnter Salzsäure gelöst und diese Lösung tropfenweise mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit und verdünnter Natronlauge andererseits versetzt. Es trat hierbei in keinem Fall eine Rotfärbung auf. Wenn nach der optimierten Vorschrift für die Erythrochin-Reaktion zunächst Kaliumhexacyanoferrat(III) zugesetzt wurde, und dann erst alkalisiert wurde, trat ebenfalls keine Rotfärbung auf. Somit kommt auch das 6-Bromchinolin nicht als Vorstufe des roten Produktes in Frage.

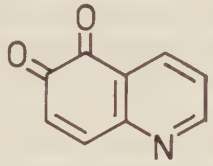
Weiter wurde überprüft, ob 6-Bromchinolin dann unter den Bedingungen der Erythrochin-Reaktion eine Rotfärbung ergibt, wenn zuvor zusätzlich Bromwasser zugefügt wurde. Auch hier war wie bei den anderen bromsubstituierten Chinolinabkömmlingen dieser Untersuchung keine Reaktion zu beobachten.

---

24) LA COSTE, Ber. dtsch. chem. Ges. 15, 558 (1882)

3. Untersuchung von 5,6-Chinolinchinon

Da die synthetisierten, in 5-Stellung bromsubstituierten Chinolinderivate sich nicht als Vorstufen der Erythrochin-Reaktion erwiesen, wurde versucht, das 5,6-Chinolinchinon darzustellen, welches zumindest von zwei Autoren[3, 9] als Zwischenstufe angesehen wird.



o-Chinolinchinone sind durch direkte Oxidation von Hydroxychinolinen zugänglich[25, 26, 27, 28, 29]. 6-Hydroxychinolin wurde zunächst analog der von R.R. HOMES und Mitarbeitern[27] für 6-Hydroxycarbostyril angegebenen Vorschrift in saurer Lösung mit Chrom(VI)-oxid oxidiert. Die resultierende dunkle Lösung gab beim Versetzen mit Ammoniakflüssigkeit keine blau-grüne Färbung, wie dies von H. FÜHNER[30] für das 5,6-Chinolinchinon angegeben wurde. Daher wurde in weiteren Versuchen 6-Hydroxychinolin in der von J.W. HARGREAVES[25] vorgeschlagenen Weise in schwach schwefelsaurer Lösung unter Erwärmen mit Bleidioxid oxidiert. Eine schwach positive Reaktion mit Ammoniak deutete darauf hin, daß sich wenig 5,6-Chinolinchinon gebildet hatte. Außerdem gab bei der dünnschichtchromatographischen Untersuchung der braunen Reaktionsmischung die Anfärbbarkeit eines - zwar am Startpunkt verbliebenen - Flecks mit Ketonsprüh-

---

25) G.W. HARGREAVES, J. Amer. pharmac. Assoc. 25, 976 (1936)
26) N.L. DRAKE u. Y.T. PRATT, J. Amer. chem. Soc. 73, 544 (1951)
27) R.R. HOMES, J. CONRADY, J. GUTHRIE u. R. McKAY, J. Amer. chem. Soc. 76, 2400 (1954)
28) H.J. TEUBER u. S. BENZ, Chem. Ber. 100, 2077 (1967)
29) H.J. TEUBER u. S. BENZ, Chem. Ber. 100, 2918 (1967)
30) H. FÜHNER, Arch. Pharmaz. 244, 619 (1906)

reagenzien einen weiteren Hinweis auf die Anwesenheit des o-Chinons. Das o-Chinolinchinon konnte aber nicht in kristallisierter Form gewonnen werden. Bei 5,6-substituierten Chinolinen ist die 8-Stellung besonders reaktionsfähig[31], so daß wahrscheinlich bei der Oxidation Nebenreaktionen auftreten. TEUBER und BENZ[28, 29] konnten zeigen, daß o-Chinolinchinone in Abhängigkeit vom pH-Wert das Ausgangsphenol "kuppeln". Es besteht hier Analogie zu den 1,2-Naphtochinonen, bei denen ebenfalls bevorzugt in 4-Stellung das Ausgangsnaphthol ankondensiert[32]. Dieses Verhalten erklärt, warum die Darstellung von 5,6-Chinolinchinon so wenig erfolgreich war.

Die braune Mischung wurde deshalb unter Einhaltung der für die Erythrochin-Reaktion festgelegten Bedingungen mit Kaliumhexacyanoferrat(III) und Alkali versetzt. Es trat keine Rotfärbung ein. Auch, wenn zuvor Bromwasser zugegeben wurde, trat die gewünschte Farbreaktion nicht auf.

5,6-Chinolinchinon kann als mögliche Vorstufe für das rote Produkt wohl ausgeschlossen werden. Außerdem widerspricht auch das spontane Auftreten einer Grünfärbung beim Behandeln des 5,6-Chinolinchinons mit Ammoniak dem Vorhandensein dieses 5,6-Chinolinchinons als Zwischenprodukt in der Erythrochin-Reaktion.

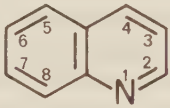
4. Diskussion des möglichen Auftretens von 6,7-Chinolinchinon

Nachdem das intermediäre Auftreten von 5,6-Chinolinchinon im Verlauf der Erythrochin-Reaktion nicht bestätigt werden konnte, erhebt sich die Frage, ob das Auftreten der roten Färbung nicht durch die Bildung eines 6,7-Chinolinchinons bedingt sein kann. Solche Chinolinchinone sind bis jetzt in freier Form nicht be-

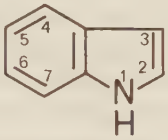
---

31) J.M. KOGAN, Ber. dtsch. chem. Ges. 64, 2150 (1931)
32) I.D. RAACKE-FELS, C.H. WANG, R.K. ROBINSON u. B.E. CHRISTENSEN, J. Org. Chem. 15, 627 (1950)

kannt. Lediglich Monosemicarbazone von 6,7-Chinolinchinonen konnten dargestellt werden[33]. Auch andere gebräuchliche Farbreaktionen, bei denen eine Rotfärbung auftritt, beruhen auf dem Entstehen von o-Chinonen, die eine ähnliche Teilstruktur, wie sie im 6,7-Chinolinchinon vorliegt, aufweisen.



Chinolinsystem



Indolsystem

o-Chinone mit dieser Teilstruktur liegen im Adrenochrom, im Rubreserin und im Brucin-o-chinon vor. Die Färbung, die bei der Erythrochin-Reaktion entsteht, stimmt mit den Färbungen dieser o-Chinone nur im Falle des 6-Methoxychinolins und des Brucin-o-chinons in etwa überein: 6-Methoxychinolin gibt eine Färbung, die bei 505 nm absorbiert, während das Absorptionsmaximum von Brucin-o-chinon bei ca. 500 nm liegt. Adrenochrom dagegen absorbiert im sichtbaren Bereich des Spektrums bei 487 nm[34] und Rubreserin bei 470 nm[35]. Vergleicht man aber das Absorptionsmaximum der roten Färbung, die mit Hydrochinin erscheint, mit dem Absorptionsmaximum von 7-Halogenadrenochrom, das sich im zweiten Schritt bei der Oxidation von Adrenalin mit überschüssigem Brom oder Jod bildet[34], so herrscht auch hier Übereinstimmung: Beide Färbungen absorbieren bei 535 nm.

Die Bildung der angeführten o-Chinone erfolgt verhältnismäßig leicht und - wenn man das Bromwasser nicht berücksichtigt - mit ähnlichen oxidierenden Reagenzien, wie sie bei der Erythrochin-

---

33) J. IWAO u. K. TOMINO, J. Pharmaz. Soc. Jap. 76, 808 (1956)
34) G.L. MATTOK u. D.L. WILSON, Canad. J. Chem. 45, 327 (1967)
35) H. HAMACHER, Diss. Tübingen 1967

Reaktion angewandt werden. So kann Adrenalin in hydrogencarbonatgepufferter Lösung mit Kaliumhexacyanoferrat(III) zum Adrenochrom umgesetzt werden[36], während Rubreserin durch Luftoxidation von Eserin in alkalischer Lösung gewonnen wurde[37]. Die mögliche Bildung von 6,7-Chinolinchinon während der Erythrochin-Reaktion ist von exakt einzuhaltenden Reaktionsbedingungen abhängig und verläuft auch dann nicht quantitativ. Folgender Reaktionsweg ist denkbar: Unter dem in o-Stellung dirigierenden Einfluß der Methoxygruppe findet am Chinolinkern nicht nur die bevorzugte 5-Bromsubstitution statt, sondern in geringem Maße erfolgt auch die ungünstigere 7-Bromsubstitution. Die Tatsache, daß von den beiden möglichen o-Stellungen bei Substitutionsreaktionen die 7-Stellung weniger begünstigt ist, könnte erklären, warum die Farbreaktion nur in geringem Umfang erfolgt und die Reaktion nie vollständig ist. Das 7-Bromprodukt ist im wässrigen Milieu nicht stabil und Brom wird gegen eine Hydroxylgruppe ausgetauscht. Auch diese Zwischenstufe muß sehr labil sein, denn die Untersuchung der Erythrochin-Reaktion zeigte, daß verzögerte Reagenzienzugabe ein Mißlingen der Reaktion zur Folge hatte.

Das jetzt möglicherweise vorliegende 6-Methoxy-7-hydroxychinolin bzw. 6,7-Dihydroxychinolin, weil auch eine Abspaltung der Methoxygruppe mit Bromwasser möglich erscheint, kann nun durch Luftoxidation in alkalischem Milieu oder durch Oxidation mit Kaliumhexacyanoferrat(III) ebenfalls in alkalischem Milieu ins 6,7-Chinolinchinon umgewandelt werden. Dieses Chinon sollte bei etwa 480 nm absorbieren; die tatsächlich auftretende Absorption bei 505 nm im Falle des 6-Methoxychinolins bzw. bei 535 nm im Falle des Hydrochinins ist vielleicht analog der des 7-Halogenadrenochroms auf eine Substitution in 8-Stellung des Chinolinkerns zurückzuführen. Wenn diese Stellung bei den Ausgangssubstanzen substituiert ist, gelingt nach D. BARKOVIĆ[9] die

---

36) R.A. HEACOCK, Chem. Reviews 59, 181 (1959)
37) A.H. SALWAY, J. chem. Soc. (London) 101, 978 (1912)

Erythrochin-Reaktion nicht, wahrscheinlich weil dann die 7-Position nicht substituierbar ist.

Beim Bromieren von 6-Methoxychinolin oder Hydrochinin unter den Bedingungen der Erythrochin-Reaktion (zwei Äquivalente Brom, wässriges Milieu) entsteht neben einem größeren Anteil 5-Bromprodukt - das keine Färbung gibt, wie die Untersuchung des synthetisierten 5-Brom-6-methoxychinolins zeigte - in geringer Menge auch das 7-Bromprodukt. Nur letzteres ist als Vorstufe der roten Färbung denkbar. Bei Anwendung von größeren Brommengen entsteht bevorzugt das 5,5-Dibrom-6-ketoprodukt, das aber als Vorstufe der Grünfärbung bei der Thalleiochin-Reaktion auftritt.

VI. Zusammenfassung

Die Erythrochin-Reaktion wird in ihren Reaktionsbedingungen untersucht und ihre Durchführbarkeit mit einer neuen Vorschrift verbessert. Chinin benötigt vier Äquivalente Brom oder Chlor, Hydrochinin, das statt der Vinyl- eine Äthylseitenkette hat, entsprechend nur zwei Äquivalente. Durch Zugabe von ca. zwei Äquivalenten Kaliumhexacyanoferrat(III) wird das Auftreten der Färbung beim Alkalisieren mit einem beliebigen Alkali beschleunigt; großer Alkaliüberschuß muß vermieden werden. Aus der alkalischen Mischung läßt sich die rote Färbung mit Chloroform extrahieren. Die einzelnen Schritte der Reaktion müssen auf Grund der geringen Stabilität der Vorstufe der Färbung rasch nacheinander erfolgen. Die Färbung ist nur kurze Zeit beständig.

In organischen Lösungsmitteln ist die Reaktion nicht durchführbar, denn die Färbung tritt nur auf, wenn vor der Alkalisierung Wasser zugesetzt wird.

Die dünnschichtchromatographische Untersuchung ergab, daß die rote Färbung nicht auf einem einheitlichen Produkt beruht, sondern drei bis fünf rote oder rötliche Substanzen vorliegen. Wegen der ungenügenden Stabilität und Zersetzungserscheinungen während des Chromatographierens war eine nähere Charakterisierung nicht möglich.

Die Erythrochin-Reaktion wird nur von solchen Chinaalkaloiden gegeben, die in 6-Stellung am Chinolinkern methoxyliert sind. Auch Cuprein, das entsprechende Hydroxyderivat des Chinins, gibt die Reaktion nicht. Der für die Reaktion entscheidende Molekülteil ist das 6-Methoxychinolin. Dieses gibt selbst auch unter den gleichen Bedingungen eine Rotfärbung. Da ebenfalls zwei Äquivalente Brom benötigt werden, wurden die monobromsubstituierten Chinolinderivate 5-Brom-6-Hydroxychinolin, 5-Brom-

6-methoxychinolin und 6-Bromchinolin als mögliche Zwischenstufen der Reaktion untersucht, gaben aber keine Rotfärbung.

Die Vermutung, daß die Färbung über intermediär auftretendes 5,6-Chinolinchinon entsteht, konnte nicht bestätigt werden. Es wird jedoch aufgrund der Ähnlichkeit von Färbung und gemeinsamer Teilstruktur mit anderen o-Chinonen z.B. Adrenochrom das Entstehen eines 6,7-Chinolinchinons diskutiert.

Beschreibung der Versuche

Dünnschichtchromatographie

Verwendet wurden Kieselgel F_{254}-Fertigplatten "Merck" der Größe 5 cm x 20 cm. Die Fließmittel wurden jeweils angegeben. Detektiert wurde durch Betrachten unter UV-Licht.

Elektronenspektren (UV-Spektrophotometrie)

Die Messungen erfolgten teilweise in einem Zeiss Spektralphotometer PMQ II, teilweise in einem Beckmann DB-Spektralphotometer mit Quarz-Küvetten der Schichtdicke 10 mm. Die Lösungsmittel wurden jeweils angegeben.

Elementaranalysen

Die Elementaranalysen wurden teils im Pharmazeutischen Institut der Universität Tübingen teils im Mikroanalytischen Laboratorium Ilse Beetz, Kronach/Ofr. durchgeführt.

Kernresonanz-Spektroskopie

Die NMR-Spektren wurden in einem Varian A-60-Gerät aufgenommen. Als Referenzsignal diente Tetramethylsilan (TMS).

pH-Messungen

Die pH-Messungen wurden mit einem Potentiograph E 336 der Fa. Methrom AG, Herisau/Schweiz durchgeführt. Es wurde eine kombi-

nierte Glaselektrode EA 121 UX benutzt.

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden teils mit einem Kofler-Schmelzpunkt-Mikroskop der Fa. Reichert teils mit dem Gerät FP 1 der Fa. Mettler, Giessen ermittelt und sind unkorrigiert angegeben.

Ermittlung der von Chinin benötigten Brommenge

Es wurden 1,975 g Chinin-Hydrochlorid zu 100,0 ml in Wasser gelöst ($5 \cdot 10^{-2}$ Mol/l); Bromwasser wurde durch Lösen von 0,799 g Brom zu 100,0 ml hergestellt ($5 \cdot 10^{-2}$ Mol/l). Je 1,0 ml der Chininhydrochloridlösung wurden mit 0,5 ml, 1,0 ml, 1,5 ml, 2,0 ml, 2,5 ml und 3,0 ml versetzt. Nach Zugabe von 0,5 ml Kaliumhexacyanoferrat(II)-Lösung (10%ig) und Ammoniakflüssigkeit (1%ig) bis zur schwach alkalischen Reaktion wurde zu 100,0 ml mit Wasser aufgefüllt und die Extinktion der rot gefärbten Lösung im Spektralphotometer bei λ_{max} = 535 nm gemessen.

Darstellung von Hydrochinin

40 g Chininhydrochlorid werden in 180 g 10 proz. H_2SO_4 gelöst, filtriert und mit 8 - 10 ml einer 2 proz. Palladiumchloridlösung solange geschüttelt, bis die zuerst aufgetretene Fällung wieder gelöst ist. Die klare Lösung gibt man in eine Schüttelente, verdrängt die Luft durch Wasserstoff und schüttelt bei freiem Zutritt von Wasserstoff. Die Reaktion geht langsam, bis das Palladiumchlorid gänzlich reduziert ist. Nach Beendigung läßt man den Katalysator absitzen und dekantiert die überstehende Lösung sorgfältig ab. Der Katalysator kann für weitere Hydrierungen verwendet werden.

Die filtrierte Lösung wird mit der doppelten Menge Wasser verdünnt und rasch durch Eingießen in 2 n NaOH alkalisiert. Ist die Zugabe zu langsam, fällt die Base leicht in einer schmierigen, schwer löslichen Form aus. Das amorphe Hydrochinin wird abgesaugt, gut mit Wasser gewaschen, so trocken wie möglich gesaugt und an der Luft getrocknet. Die Base wird aus Aceton umkristallisiert.

Ausbeute: 34 g = 85% d. Theorie

Ermittlung der von Hydrochinin benötigten Brommenge

Es wurde eine Lösung von 1,985 g Hydrochinin-Hydrochlorid zu 100,0 ml in Wasser hergestellt ($5 \cdot 10^{-2}$ Mol/l, im Folgenden als Hydrochinin-Stammlösung bezeichnet). Die Versuche wurden wie oben für Chinin-Hydrochlorid beschrieben durchgeführt.

Ermittlung der benötigten Alkalimenge

Als Alkalisierungsmittel wurden eingesetzt:

1. Natriumacetatlösung, 5%ig
2. Natronlauge, 0,2 n
3. Ammoniakflüssigkeit, 0,4%ig

Jeweils 1 ml der Hydrochinin-Stammlösung wurde nach Zusatz von 1 ml Bromwasser (s.o.) mit immer nur 0,1 ml steigenden Volumina eines Alkalisierungsmittels versetzt. Nach dem Auftreten der Rotfärbung wurde mit Wasser auf 100,0 ml aufgefüllt und die Extinktion der roten Färbung im Spektralphotometer gemessen. Für die optimale Alkalimenge ergaben sich bei den verschiedenen Alkalisierungsmitteln nahezu gleiche Extinktionswerte (Abb. 3).

Messung des pH-Verlaufs während der Reaktion

5 ml der Hydrochinin-Stammlösung wurden mit 5 ml Bromwasser versetzt. Unter lebhaftem Rühren wurde das Alkalisierungsmittel aus einer Bürette zugetropft. Während des Zugebens der Reagenzien wurde mit Hilfe einer kombinierten Glaselektrode und einem schreibenden Potentiometer kontinuierlich der pH-Wert gemessen und aufgezeichnet. Die Kurvenbilder sind in den Abbildern 1 und 2 wiedergegeben.

Ermittlung der benötigten Kaliumhexacyanoferrat(II)-Menge

Je 1,0 ml der Hydrochinin-Stammlösung wurde mit 1,0 ml Bromwasser versetzt. Dann wurde um je 0,1 ml steigende Volumina Kaliumhexacyanoferrat(II)-Lösung (10%ig) zugesetzt und mit 1,0 ml 0,2 n Natronlauge alkalisiert. Die Rotfärbung wurde dreimal mit je 10,0 ml Chloroform extrahiert. Die Chloroformauszüge wurden mit Chloroform zu 100,0 ml aufgefüllt und die Extinktion der roten Lösung im Spektralphotometer bei λ_{max} = 535 nm gemessen. Für die optimale Kaliumhexacyanoferrat(II)-Menge wurde das gesamte Spektrum aufgenommen (Abb. 4).

Ermittlung der benötigten Kaliumhexacyanoferrat(III)-Menge

In der gleichen Versuchsanordnung wie oben, wurde statt Kaliumhexacyanoferrat(II) nun Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung (10%ig) eingesetzt. Für die optimale Kaliumhexacyanoferrat(III)-Menge wurde das gesamte Spektrum aufgenommen (Abb. 5). Sie wurde, bezogen auf die jeweils eingesetzte Hydrochinin-Stammlösung, mit etwa zwei Äquivalenten Kaliumhexacyanoferrat(III) ermittelt.

Einsatz von Eisen(III)-chlorid

In der gleichen Versuchsanordnung wie oben wurde statt der Kaliumhexacyanoferrate Eisen(III)-chlorid-Lösung eingesetzt. Das Spektrum der Rotfärbung nach Eisen(III)-chlorid-Zusatz zeigt Abbildung 7.

Messung der Haltbarkeit der roten Färbung

1,0 ml der Hydrochinin-Stammlösung wurde mit 1,0 ml Bromwasser, 0,4 ml Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung (10%ig) und 1,0 ml 0,2 n Natronlauge versetzt. Dann wurde mit Wasser zu 100,0 ml aufgefüllt und die Extinktion dieser Lösung bei λ_{max} = 535 nm im Spektralphotometer gemessen. Diese Messung wurde zunächst alle 5 Minuten, nach einer Stunde alle 15 Minuten und schließlich alle halbe Stunde wiederholt. Insgesamt wurden die Messungen über acht Stunden ausgedehnt (Abb. 8).

In einem zweiten Versuch wurde die Reaktion wie oben durchgeführt und mit der auf 100,0 ml aufgefüllten Lösung das Absorptionsspektrum aufgenommen. Nach lichtgeschützter Aufbewahrungszeit von drei und 48 Stunden wurde das Spektrum erneut aufgenommen.

Ätherextraktion der roten Lösung

1,0 ml der Hydrochinin-Stammlösung wurden nach Zusatz von 1,0 ml Bromwasser, 0,4 ml Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung (10%ig) und 1,0 ml 0,2 n Natronlauge dreimal mit je 20,0 ml Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherauszüge wurden zu 100,0 ml mit Äther aufgefüllt und das Absorptionsspektrum dieser Lösung im Spektralphotometer gemessen.

Nach der Ätherextraktion wurde wie sonst normal mit Chloroform extrahiert, der Chloroformextrakt zu 100,0 ml aufgefüllt und das Spektrum im Spektralphotometer aufgenommen (Abb. 10).

Zur Bestimmung des Rückstandes des Ätherextrakts wurde der Extrakt wie oben angegeben gewonnen, mit frisch geglühtem Natriumsulfat entwässert, dann der Äther im Vakuum abgezogen und der Rückstand gewogen.

Mittelwert aus mehreren Bestimmungen: 0,0211 g

Herstellung von Trockensubstanz des roten Produktes

10,0 ml der Hydrochinin-Stammlösung wurden mit 10,0 ml Bromwasser und 4,0 ml Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung (10%ig) versetzt. Beim Alkalisieren mit 10,0 ml 0,2 n Natronlauge trat eine dunkelrot gefärbte Fällung auf, die scharf abgesaugt und nach Nachwaschen mit wenig kaltem Wasser im Vakuumexsikkator getrocknet wurde. Die Aufbewahrung mußte lichtgeschützt erfolgen.

Die getrocknete Substanz ist gut löslich in Chloroform, Methylenchlorid, Äthanol (Zers.), Methanol (Zers.), Aceton (Zers.), Eisessig; sie ist weniger gut löslich in Benzol, Äther und Tetrachlorkohlenstoff. Die Chloroformlösung der Trockensubstanz zeigt Maxima bei 535 nm, 390 nm und 335 nm.

Präparative Schichtchromatographie

50,0 mg der getrockneten Substanz wurden in wenig Chloroform gelöst und bandförmig auf eine Kieselgel F_{254}-Fertigplatte "Merck" zur Schichtchromatographie aufgetragen. Es wurde dreimal hintereinander mit dem Fließmittel Chloroform/Äthanol/Ammoniakflüssigkeit 5%ig (40 + 10 + 5) eluiert. Das rote Produkt erlitt

hierbei Zersetzung und es konnte nur Hydrochinin (R_f = 0,7) und eine unter UV-Licht hell fluoreszierende Substanz (R_f = 0,45) detektiert werden. Die entsprechenden Zonen wurden abgehoben und nach Soxhlet-Extraktion mit Methanol aus der Hydrochininzone 12 mg Hydrochinin und aus der Zone mit R_f = 0,45 15,8 mg Substanz gewonnen.

Chloroformextraktion des schwach sauren Ansatzes

30,0 ml der Hydrochinin-Stammlösung wurden mit 30,0 ml Bromwasser versetzt und einmal mit 60,0 ml Chloroform extrahiert. Nach dem Entwässern des Chloroformextraktes mit frisch geglühtem Natriumsulfat wurde bei Raumtemperatur und vermindertem Druck zur Trockne eingedampft. Ausbeute 10,8 mg. Die getrocknete Substanz war nicht haltbar.

Ausführung der Reaktion in Chloroform

Es wurden 1,985 g Hydrochinin-Hydrochlorid zu 100,0 ml in Chloroform gelöst ($5 \cdot 10^{-2}$ Mol/l). Die Bromlösung wurde durch Auflösen von 0,799 g Brom zu 100,0 ml in Chloroform hergestellt ($5 \cdot 10^{-2}$ Mol/l).

1,0 ml der Hydrochinin-Hydrochloridlösung wurde mit 1,0 ml der Bromlösung versetzt. Die gelbliche Lösung wurde dann mit 5,0 ml Wasser kräftig geschüttelt und die Chloroformschicht abgetrennt. Mit der wässrigen Phase wurde durch Zusatz von Kaliumhexacyanoferrat(III) und Alkali die Farbreaktion in der gewohnten Weise ausgeführt.

Es wurden 1,63 g Hydrochinin-Base zu 100,0 ml in Chloroform gelöst ($5 \cdot 10^{-2}$ Mol/l). 1,0 ml dieser Hydrochininlösung wurde mit 1,0 ml der chloroformhaltigen Bromlösung versetzt. Die gelbe Lösung wurde mit 5,0 ml Wasser, das zuvor mit 5 Tropfen 0,2 n

Salzsäure angesäuert war, kräftig geschüttelt und dann wie oben beim chloroformhaltigen Ansatz mit Hydrochinin-Hydrochlorid weiterbehandelt.

Darstellung von Festsubstanz aus dem Chloroformansatz

10 ml der chloroformhaltigen Stammlösung der Hydrochinin-Base wurden mit 10 ml der chloroformhaltigen Bromlösung versetzt und im Vakuum bei Raumtemperatur auf etwa die Hälfte des Volumens eingeengt. Da nach längerem Stehen bei 5° keine Kristalle auftraten, wurde das Lösungsmittel vollständig abgezogen, der feste Rückstand fein verrieben und im Vakuum über P_2O_5 getrocknet. Mit dieser Festsubstanz wurde eine Methoxylgruppenbestimmung und eine Bromgehaltsbestimmung durchgeführt. Die Analysenergebnisse lassen auf ein Bromhydrochinin-Hydrobromid schließen.

Ausbeute: 0,257 g

$C_{20}H_{25}N_2O_2Br \cdot HBr$ (486,2)

Ber.: OCH_3 6,18 Br 32,87

Gef.: OCH_3 6,25 Br 40,96

Darstellung von 6-Methoxychinolin

78 g Anisidin, 50 g Nitrobenzol und 320 g Glycerin, welches unter ständigem Rühren durch langsames Erhitzen auf 170° entwässert wurde, werden gemischt und mit 125 g konz. H_2SO_4 versetzt. Die Mischung wird unter Rückflußkühlung zwei Stunden auf dem Wasserbad erwärmt, mit weiteren 50 g konz. H_2SO_4 versetzt und noch zwei Stunden erhitzt. Die zeitweilig heftige Reaktion bremst man durch Unterbrechen des Erhitzens. Nach beendeter Reaktion gibt man vorsichtig das doppelte Volumen Wasser hinzu, wobei sich der größte Teil nicht umgesetzten Nitrobenzols abscheidet. Der Rest wird durch Wasserdampfdestillation entfernt. Nach dem Abkühlen alkalisiert man mit 6 n Natronlauge

und unterwirft das Gemisch einer erneuten Wasserdampfdestillation, wobei man das Destillat in soviel 2 n Schwefelsäure auffängt, daß sich kein saures Sulfat bilden kann. Man neutralisiert, engt im Vakuum ein, gibt bei beginnender Kristallisation Alkohol hinzu und läßt bei 5° absitzen. Der Kristallbrei wird abgesaugt und mit kaltem Alkohol gewaschen, bis im Filtrat mit Eisen(III)-chlorid kein p-Anisidin mehr nachweisbar ist.

Ausbeute: 42 g = 55 % d. Theorie, bezogen auf p-Anisidin, berechnet als Base.

Darstellung des Hydrochlorids

Einen Teil des Sulfats löst man in Wasser, alkalisiert mit 2 n NaOH und äthert die Base aus. Der auf ein kleines Volumen eingeengte Ätherauszug wird mit frisch geglühtem Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und HCl-Gas eingeleitet. Das Hydrochlorid fällt als weiße, amorphe Masse an, wird abgesaugt und aus Äthanol/Wasser umkristallisiert. Man erhält feine weiße Nadeln, welche bei 105° unzersetzt sublimieren. Der Schmelzpunkt liegt, wenn der Block vorher auf 190° erhitzt wird, bei 204°.

$C_{10}H_9NO \cdot HCl$ (195,6)

Ber.: C 61,45 H 5,16 N 7,15 O 8,18 Cl 18,15

Gef.: C 61,48 H 5,25 N 7,1 O - Cl -

Ausführung der Reaktion mit 6-Methoxychinolin

Es wurden 0,978 g 6-Methoxychinolin-Hydrochlorid zu 100,0 ml in Wasser gelöst ($5 \cdot 10^{-2}$ Mol/l). Diese Lösung wurde als Stammlösung analogen Versuchen, wie oben für Hydrochinin-Hydrochlorid beschrieben, unterworfen, um die optimalen Reaktionsbedingungen festzulegen. Mit 6-Methoxychinolin gelingt die Reaktion unter den gleichen Voraussetzungen wie mit Hydrochinin.

Darstellung von 6-Hydroxychinolin(I)

Eine Mischung von 22 g p-Aminophenol, 17 g p-Nitrophenol, 100 g Glycerin, 60 ml Eisessig und 55 ml konz. H_2SO_4 wird 24 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die Reaktion geht gemäßigt vonstatten. Nach dem Abkühlen gibt man 500 ml Wasser hinzu und fällt unter kräftigem Rühren die begleitenden Teerstoffe durch fraktionierte Fällung mit 40%iger Natronlauge aus. Es wird durch ein großes Faltenfilter filtriert und das Filtrat mit 10%iger Natronlauge alkalisch gemacht. Dabei scheidet sich das 6-Hydroxychinolin als gelb-braune Fällung ab. Es wird abgesaugt, mit wenig Wasser ausgewaschen und dann getrocknet. Man kristallisiert aus einer Mischung von 10 % Aceton und 90 % Wasser unter Zusatz von etwas Aktivkohle um.

Ausbeute: 24 g = 82 % d. Theorie, berechnet auf p-Aminophenol

Schmelzpunkt: 193°

C_9H_7NO (145,2)

Ber.: C 74,50 H 4,85 N 9,65 O 11,03

Gef.: C 74,42 H 4,88 N 9,61 O 11,09

Im NMR-Spektrum des 6-Hydroxychinolins ist das schlecht aufgelöste Signal bei δ = 8,98 ppm auf das Proton der Hydroxylgruppe zurückzuführen; es fehlt nach der Ausschüttelung mit D_2O. Das Proton am C-2 erscheint als Dublett bei δ = 8,70 ppm. Ein weiteres Dublett bei δ = 7,91 ppm ist den Protonen an C-4 und C-8 zuzuordnen. Das Signal des Protons am C-7 findet sich als Dublett bei δ = 7,3 ppm, während das Quartett bei δ = 7,21 ppm vom Proton am C-3 herrührt. Schließlich findet man das Signal des Protons am C-5 als Dublett bei δ = 7,00 ppm. Von δ = 4,83 - 2,88 ppm erscheinen die Signale des Lösungsmittels. Abbildung siehe folgende Seite.

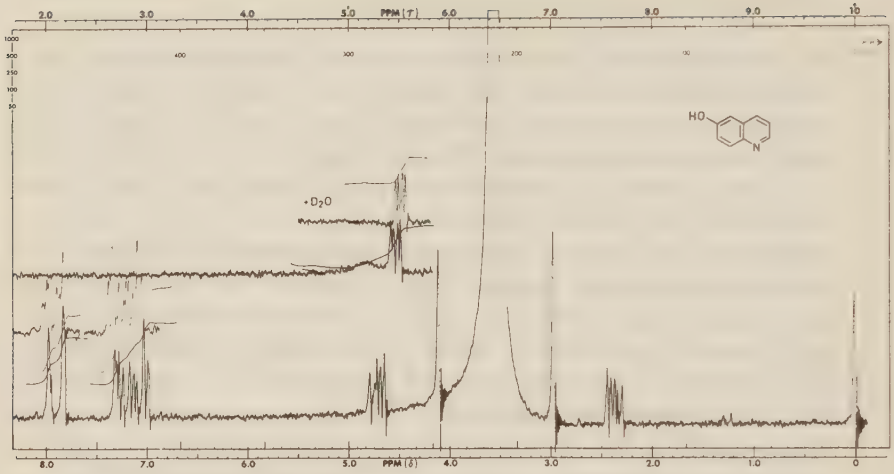


Abb. 19: NMR-Spektrum des 6-Hydroxychinolins in Dioxan gemessen

Darstellung von 5-Brom-6-hydroxychinolin(II)

4,1 g 6-Hydroxychinolin werden in 41,0 g Eisessig gelöst und eine Lösung von 4,5 g Brom in 22,5 g Eisessig zugetropft. Unter Entfärbung der Lösung scheidet sich ein gelber kristalliner Niederschlag von 5-Brom-6-hydroxychinolin-Hydrobromid ab. Man saugt ab und trocknet im Vakuum.

Das Salz wird in Wasser gelöst und die Lösung mit Ammoniakflüssigkeit übersättigt. Man fällt die Base mit Essigsäure aus. Es wird abgesaugt, getrocknet und die Substanz aus viel heißem Wasser umkristallisiert.

Ausbeute: 4,9 = 77 % d. Theorie
Schmelzpunkt: 187°

Im NMR-Spektrum des 5-Brom-6-hydroxychinolins rührt das charakteristische Dublett bei δ = 8,83 ppm vom Proton am C-2 her. Auf

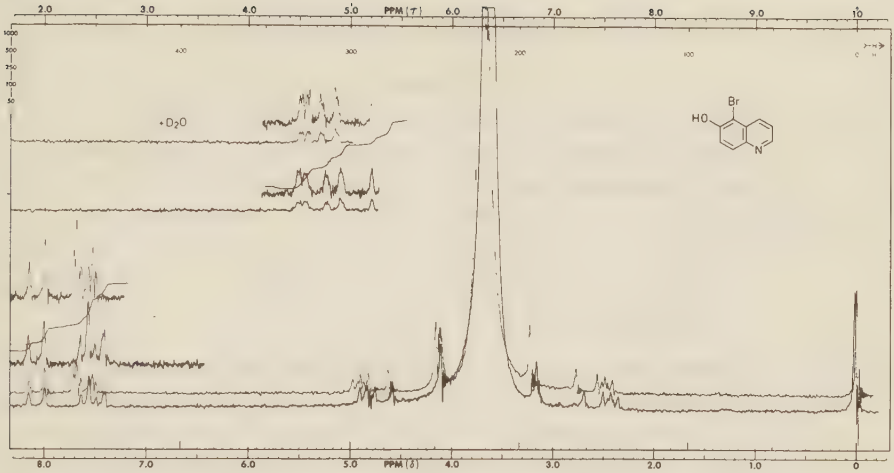


Abb. 20: NMR-Spektrum des 5-Brom-6-hydroxychinolins in Dioxan gemessen

Grund der Bromsubstitution am C-5 erscheinen die Protonen an C-4 und C-8, die im NMR-Spektrum der unbromierten Substanz zusammen ein Dublett bei höherem Feld ergaben, in zwei getrennten, nach tieferem Feld verschobenen Dubletts bei δ = 8,52 ppm und δ = 8,07 ppm. Das Signal des Protons am C-7 liegt als weiteres Dublett bei δ = 7,60 ppm, und das Signal, das durch das Proton am C-3 verursacht ist, tritt hier ebenfalls als Dublett bei δ = 7,45 ppm auf. Durch das Integral werden nur fünf und nicht wie in vorstehendem NMR-Spektrum des 6-Hydroxychinolins sechs unmittelbar ans Ringsystem gebundene Protonen angezeigt. Ein Signal für das Hydroxylproton kann nicht ausgemacht werden. Von δ = 4,95 - 2,33 ppm befinden sich die Signale des Lösungsmittels.

Darstellung von 5-Brom-6-methoxychinolin(III)

2,5 g 5-Brom-6-Hydroxychinolin werden in wenig Alkohol gelöst, mit 0,6 g Natriumhydroxid und 1,97 g Methyljodid mehrere Stunden unter Rückfluß erhitzt. Dann destilliert man den Alkohol ab und äthert mehrmals aus. Die Substanz kristallisiert aus der ätherischen Lösung in Blättchen aus und wird aus Alkohol umkristallisiert.

Ausbeute: 300 mg = 11 % d. Theorie
Schmelzpunkt: 99°

Da die Ausbeute mit obiger Methode zu gering war, wurde versucht, 6-Methoxychinolin analog dem 6-Hydroxychinolin direkt zu bromieren: 3,2 g 6-Methoxychinolin werden in 16 g Eisessig gelöst und langsam eine Lösung von 3,2 g Brom in 16 g Eisessig zugetropft. Nach eintägigem Stehen scheidet sich ein dicker Kristallbrei ab, der abgenutscht, mit wenig Wasser gewaschen und dann getrocknet wird.

Das Salz wird in Wasser gelöst und durch Übersättigen mit Ammoniakflüssigkeit die Base ausgefällt. Es wird abfiltriert und nach dem Nachwaschen mit wenig Wasser im Vakuum getrocknet. Zur weiteren Reinigung wird aus viel siedendem Wasser umkristallisiert. Schmelzpunkt und R_f-Wert stimmen mit der zuerst synthetisierten Substanz überein.

Ausbeute: 1,87 = 40 % d. Theorie

$C_{10}H_8NOBr$ (238,1)

Ber.: C 50,45 H 3,39 N 5,87 O 6,73 Br 33,56
Gef.: C 50,45 H 3,44 N 5,73 O - Br 33,26

Im NMR-Spektrum von 5-Brom-6-methoxychinolin gibt das Proton am C-2 ein charakteristisches Dublett bei δ = 8,77 ppm. Durch die Abschirmung des Broms erscheinen auch hier die Protonen am C-4 und C-8 in getrennten Dubletts bei δ = 8,49 ppm und δ = 8,05 ppm, ähnlich wie im NMR-Spektrum der unverätherten Verbindung. Die Signale der Protonen an C-7 und C-3 finden sich als weitere

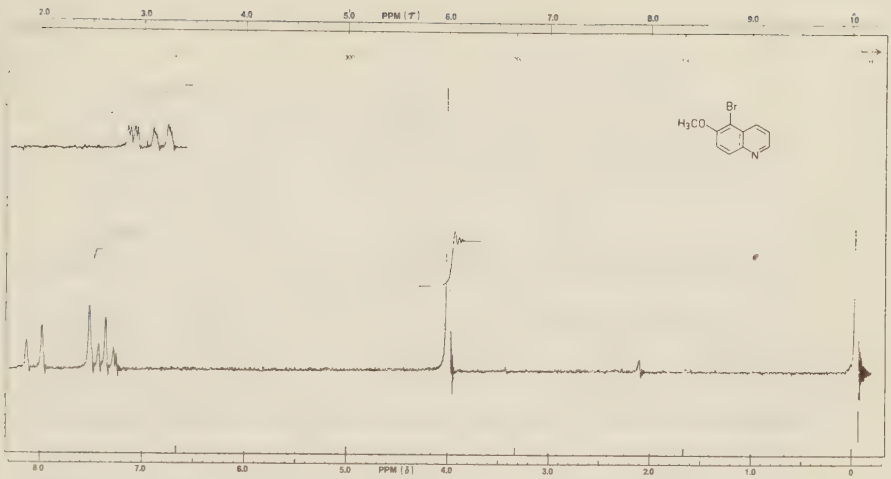


Abb. 21: NMR-Spektrum des 5-Brom-6-methoxychinolins in Deutero-Chloroform gemessen

Dubletts bei δ = 7,47 ppm und δ = 7,32 ppm. Das Integral über diesen Signalen zeigt fünf Protonen an. Die Protonen der Methoxygruppe verursachen ein Singulett bei δ = 4,01 ppm.

Darstellung von 6-Bromchinolin

17,3 g p-Bromanilin werden mit 9,2 g Glycerin, 12,4 g Nitrobenzol und 10 g konz. H_2SO_4 erhitzt. Die anfänglich heftige Reaktion wird später durch gelindes Erhitzen weitergeführt. Nach dem Erkalten wird mit Wasser verdünnt und das nicht umgesetzte Nitrobenzol durch Wasserdampfdestillation abgetrennt. Wenn nichts mehr übergeht, macht man alkalisch und unterwirft die Mischung erneuter Wasserdampfdestillation, um das 6-Bromchinolin überzutreiben. Das Destillat wird mehrfach ausgeäthert und sodann die vereinigten Ätherextrakte mit Natriumsulfat sicc. entwässert.

Der Äther wird abgezogen und der ölige Rückstand bei vermindertem Druck fraktioniert destilliert.

Ausbeute: 3,5 g = 17 % d.Theorie, berechnet auf p-Bromanilin
Siedepunkt: 175° (20 Torr)

Darstellung von 5,6-Chinolinchinon

5,0 g 6-Hydroxychinolin werden in einer Mischung von 350,0 ml Wasser und 5,0 ml konz. H_2SO_4 gelöst. Man gibt 20,0 g Bleidioxid dazu, erhitzt zum Sieden und kocht fünf Minuten. Nach dem Abkühlen wird filtriert und auf dem Wasserbad auf etwa 50,0 ml eingeengt. Auch nach längerem Stehen bei 5° konnten keine Kristalle gewonnen werden. Mit überschüssiger Ammoniakflüssigkeit war jedoch das 5,6-Chinolinchinon nachweisbar.

L e b e n s l a u f

Am 15. August 1940 wurde ich, Reinhard Dietrich Jaschik als Sohn des Apothekers Wilhelm Adalbert Jaschik und seiner Ehefrau Magdalena, geb. Kasper, in Neustadt/Oberschlesien geboren.

Von Herbst 1946 bis Frühjahr 1951 besuchte ich die Volksschule in Deggendorf, Ahlen/Westf. und Duisburg, anschließend das Steinbart Gymnasium in Duisburg, von dem ich im Juli 1954 an das Staatlich Neusprachliche Gymnasium in Neuwied überwechselte, wo ich im März 1960 die Reifeprüfung ablegte.

Nach zweijähriger Praktikantenzeit in der Apotheke in Engers legte ich im April 1962 vor dem Prüfungsausschuß in Koblenz die pharmazeutische Vorprüfung ab. Mit Beginn des Wintersemesters 1962/63 nahm ich an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz das Studium der Pharmazie auf, das ich im Juli 1967 mit dem Pharmazeutischen Staatsexamen abschloß.

Es folgte eine achtmonatige Kandidatenzeit in der Neuen Apotheke zu Neuwied und im Mai 1968 begann ich am Pharmazeutischen Institut der Eberhard-Karls-Universität Tübingen unter Leitung von Herrn Professor Dr. H. Auterhoff mit der Bearbeitung der vorliegenden Dissertation, die im April 1974 abgeschlossen wurde. Von September 1968 bis Juli 1969 war ich als wissenschaftliche Hilfskraft tätig und seit September 1969 war ich Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle.

Im Februar 1969 heiratete ich Fräulein Liselotte Kroschel. Wir haben zwei Kinder.

Meine akademischen Lehrer außer Herrn Professor Dr. H. Auterhoff waren die Herren Professoren und Dozenten:
H. Rochelmeyer, E. Mutschler, G. Ehrhart, H. Ruschig (Pharmazie)
F. Straßmann, W. Kern (Chemie) W. Troll, K. Höhn, H. Weber (Botanik) H. Weber (Pharmakognosie) G. Klages (Physik)
E. v. Wasielewski (Hygiene)

Offsetdruck-Fotodruck
J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990